INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Supplemento das Memorias

No. 4 Dezembro, 1928

Summario:

Costa Lima, Dr. A. da. Sobre alguns cryphalineos observados em sementes de cacaoeiro e de cafeeiro..... 117

Fonseca, Drs. O. da, e Arêa Leão, A. E. de. Sobre os cogumelos da piedra brazileira..... 124

Costa Lima, Dr. A. da. Contribuição ao estudo dos aleyrodideos da sub-familia ALEURODICINAE..... 128

Souza-Araujo, Dr. H. C. de. Estudos sobre a lepra. II. TENTATIVAS DE CULTURA DO *MYCOBACTERIUM LEPRAE* (*COCCOTHRIX LEPRAE* LUTZ, 1886). ISOLAMENTO DE UM ACTINOMYCES DE UM LEPROMA. O *ACTINOMYCES LEPROMATIS*. n. sp..... 141

Cunha, Drs. Aristides Marques da, e Muniz, Julio. Reacção nuclear de FEULGEN nos espirochetas e nas bacterias..... 145

O supplemento das Memorias destina-se á publicação immediata das pesquizas realizadas no Instituto Oswaldo Cruz.

RIO DE JANEIRO

Typ. do INSTITUTO OSWALDO CRUZ

1928

Sobre alguns cryphalineos observados em sementes de cacaoeiro e de cafeeiro

Pelo Dr. A. da COSTA LIMA.

Quando publiquei algumas notas sobre o *Stephanoderes seriatus* EICHHOFF (1) fiz referencias a uma serie de exemplares colhidos na Bahia em fructos de cacaoeiro e de cafeeiro por G. BONDAR.

Taes exemplares, uns maiores do genero *Stephanoderes*, outros menores do genero *Hypothenemus*, foram, nessa occasião, superficialmente examinados. Pude, entretanto, notar que os primeiros, na sua maioria, embora muito semelhantes aos especimens de *seriatus*, daqui e dos Estados do Rio e de São Paulo, apresentavam algumas differenças, que assignalei e mesmo figurei no alludido trabalho.

Acreditando tratar-se de uma variedade ou mesmo especie differente do *S. seriatus*, entreguei alguns desses exemplares a CARLOS MOREIRA, pedindo-lhe que os remettesse a EGGERS para resolver a questão. Infelizmente o referido material estraviou-se e assim nada se poude obter deste especialista.

Revendo agora com mais vagar os especimens que ficaram em meu poder, verifiquei haver, de facto, no materiel enviado por BONDAR, tres especies bem differentes de *Cryphalinae*: o insecto que foi determinado por EGGERS como sendo o *S. seriatus*, um *Hypothenemus* e a outra forma de *Stephanoderes*, ainda não estudada, cuja descripção, apresentada linhas a seguir, será feita comparativamente com o que se observa no *seriatus*. Classifical-a-ei tambem como um *Hypothenemus* pelas razões que exporei quando tratar da outra especie deste genero.

Hypothenemus heterolepis sp. n.

Proximo do *H. seriatus*, porem mais longo (1,75 mm.) e de côr mais clara (côr castanha em todo o corpo).

Examinando-se o insecto de lado, nota-se o seguinte: a giba prothoraxica é um pouco mais saliente e de declividade anterior mais abrupta que em *seriatus*; os elytros reunem-se em cima formando uma linha recta até a declividade posterior e não ligeiramente arqueada desde a base como em *seriatus*.

Dentes da rugosidade prothoraxica mais robustos e numerosos que em *seriatus*. Corôando em cima o bordo apical do prothorax ha 2 dentes medianos e 3 ou 4 de cada lado, maiores que os medianos. Pontuação dos elytros bem mais fina que em *seriatus*.

Como nesta ultima especie os intersticios elytraes são brilhantes e

(1) COSTA LIMA, Sobre a broca do café, Chacaras e Quintaes, 1924, XXX, 414-415, fig. 1.
—Notas sobre o *Stephanoderes seriatus* EICHHOFF, Bol. Minist. Agric Ind. Com., 1925, XIV, 3, p. 198.

ornados de escamas espatuladas, longitudinalmente estriadas e com pellos microscopicos ao longo das estrias. Taes escamas, porem, são um pouco mais alongadas que em *seriatus*.

Alem dessas escamas ha tambem nos intersticios, alternando com ellas e de cada lado das series que constituem, escamas lanceoladas, com uma estria longitudinal da base ao apice (v. fig. 4).

Tibias anteriores, em geral, mais denteadas no bordo externo que em *seriatus*.

Alem destes caracteres ha ainda a considerar o aspecto da spermatheca, bem differente nas duas especies como se pode ver nas figs. 7—10.

A estructura do proventriculo é muito semelhante a desse orgão no *hispidulus*.

Cotypos, na collecção entomologica do Instituto.

? **Hypothenemus hispidulus** (LE CONTE)

Muito se escreveu, não sómente sobre esta especie, como em relação ao *H. eruditus* WESTW. Aliás ambas são muito semelhantes, pois a principal differença entre ellas, a julgar pelas respectivas descripções, está na côr do prothorax, que em *eruditus* é vermelha testacea, emquanto que em *hispidulus* é picea escura, isto é, igual a dos elytros.

Os exemplares de *Hypothenemus* que me foram enviados da Bahia por BONDAR, pela côr picea uniforme e pelos principaes caracteres morphologicos, parecem pertencer á especie descripta por LE CONTE. O mesmo posso dizer com relação a uma serie de exemplares que retirei de um galho secco, actualmente guardados no vidro nº. 675, do Gabinete de Entomologia da Escola Superior de Agricultura e Medicina Veterinaria.

Todavia, em todos esses especimens não ha na fronte a linha mediana brilhante que HOPKINS assignala nos exemplares de *hispidulus*; nota-se apenas uma pontuação esparsa, sem outras depressões ou saliencias. O comprimento varia nas femeas de 1 a 1,2 mm. Os machos, em geral, são menores que as femeas (0,75 mm), porém, ás vezes, são tão longos quanto ellas ou mesmo mais longos que as de porte reduzido. O bordo apical do prothorax apresenta uma corôa de 6 dentes subiguaes. O revestimento dos elytros é semelhante ao de *H. heterolepis*, isto é, além da pilosidade das pontuações e das escamas espatuladas, aliás mais estreitas no insecto que penso ser o *hispidulus*, ha tambem escamas lanceoladas do typo das que se observa em *heterolepis*.

A spermatheca é tambem parecida com a de *heterolepis*, como se pode ver na fig. 11. A moela ou proventriculo é do typo da que se encontra nos *Stephanoderes* que tenho estudado.

Como se sabe o unico caracter generico que separa *Stephanoderes* de *Hypothenemus* é haver no funiculo antennal de *Stephanoderes* 5 segmentos e no de *Hypothenemus* apenas 4 (2). Ora essa distincção, como mostrarei,

(2) Os especialistas em Scolytoidea consideram o pedicello como 1º segmento do funiculo. Este modo de considerar a antenna não me parece, entretanto, o mais correcto. De facto, nas antennas geniculo-clavadas ha 4 partes perfeitamente distinctas: o escapo, o pedicello, o funiculo e a clava. Ora, se aquelles autores separam o funiculo da clava, quando muitas vezes o segmento distal daquelle se apresenta mais ou menos fundido com a clava, não me parece razoavel que considerem o pedicello, que é sempre bem distincto dos demais segmentos, como parte integrante do funiculo.

não me parece ter a importancia que lhe deram e que ainda lhe dão alguns autores modernos.

O proprio EICHHOFF, creador do genero *Stephanoderes*, foi o primeiro a dizer (3) que uma parte das especies, senão todas, por elle descriptas como sendo do genero *Stephanoderes* eram congenericas com *Hypothenemus eruditus*. Procurou, entretanto, demonstrar que o genero *Hypothenemus* WESTWOOD (1836), embora tendo prioridade sobre o genero *Stephanoderes* por elle creado (1871), não podia ser considerado valido, por ter sido fundado sobre um caracter não existente (funiculo antennal de 3 segmentos), visto ter observado 5 segmentos no funiculo antennal de *H. eruditus*. Entretanto, como bem disse BLANDFORD (4), não ha razão para se duvidar da affirmação de WESTWOOD, pelo menos com relação ao exemplar por elle disseccado. Ademais, admittindo-se mesmo que esse caracter não tenha valor diagnostico, o genero foi bem fundamentado e perfeitamente distincto na época em que foi creado. Aliás, é quasi certo que não tenha havido erro na observação de WESTWOOD, pois recentemente HOPKINS, examinando varias especies do genero *Hypothenemus*, verificou que os machos de algumas apresentam apenas 3 segmentos no funiculo.

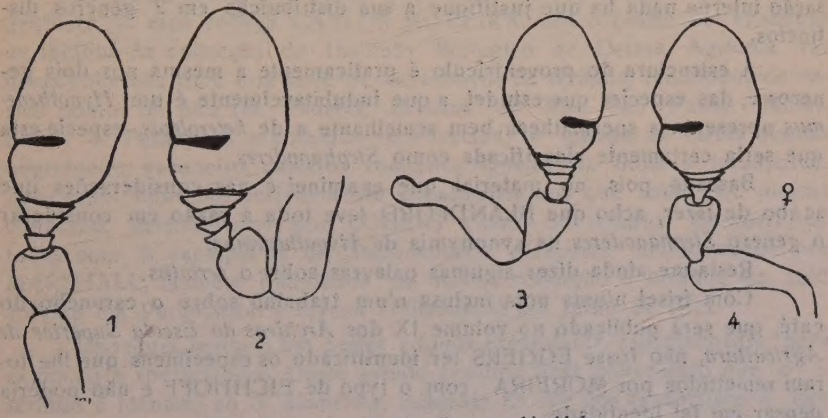


Fig. 1. Antennas de *Hypothenemus hispidulus*.
1 e 2—De um exemplar ♂.
3—De outro ♂.
4—Da femea.

Disseccando varios especimens do *Hypothenemus*, que me parece identico ao *H. hispidulus*, observei o que se segue. Nas femeas ha, de facto, pelo menos nos especimens por mim examinados, 4 segmentos no funiculo (fig. 1: 4). Nos machos, porém, essa parte da antenna varia consideravelmente. Em alguns ha 4 segmentos. Em 2 que dissequei, montando cuidadosamente as antennas em balsamo, vi a antenna de um lado com 4 segmentos e a do outro com 5, isto é, exactamente como em *Stephanoderes* (fig. 1: 1, 2 e 3). Em outro exemplar, que apresentava apenas uma antenna, contei sómente 3 segmentos no funiculo.

(3) EICHHOFF, W., Remarks on the synonymy of some North American scolytid beetles. 1896, Proc. U. S. Nat. Mus., XVIII, p. 608.

(4) BLANDFORD, Biol. Centr. Amer., 1904, Col. IV, 6, p. 226.

Por outro lado nota-se identica variação nas antennas dos machos de *Stephanoderes*. HOPKINS (5), na diagnose do genero, diz "funiculo antennal de 5 segmentos, algumas vezes com 4 articulos no macho". Em varios exemplares de *hampei* e de *seriatus* que examinei, vi, não sómente funiculos de 4, como até mesmo de 3 segmentos. Nestes casos a clava apresenta, na base e no lado do septo, geralmente pouco abaixo delle, um entalhe mais ou menos profundo, porém não attingindo o outro bordo da clava.

Tendo em vista taes variações, não sei porque razão ainda se considera o genero *Stephanoderes* como valido. Apenas, para os separar, ha o aspecto do funiculo antennal nas femeas (4 segmentos em *Hypothenemus* e 5 em *Stephanoderes*). Resta, porem, saber se, mesmo nas femeas, esse caracter é constante. Em *Hypothenemus eruditus*, como já disse WESTWOOD, no exemplar que examinou, contou 3 segmentos (não se sabe exactamente se era macho ou femea). EICHHOFF considerou o funiculo dessa especie como apresentando 5 segmentos e HOPKINS (6), que examinou uma femea da serie typica do *H. eruditus*, encontrou apenas 4.

Se pela morphologia externa as especies dos 2 generos se confundem, a ponto de muitas dellas, como *hampei*, *hispidulus*, etc., terem sido designadas, ora como *Hypothenemus*, ora como *Stephanoderes*, pela organisação interna nada ha que justifique a sua distribuição em 2 generos distinctos.

A estructura do proventriculo é praticamente a mesma nos dois generos e, das especies que estudei, a que indubitavelmente é um *Hypothenemus* apresenta a spermatheca bem semelhante a de *heterolepis*, especie esta que seria certamente classificada como *Stephanoderes*.

Baseado, pois, no material que examinei e nas considerações que acabo de fazer, acho que BLANDFORD teve toda a razão em considerar o genero *Stephanoderes* na synonymia de *Hypothenemus*.

Resta-me ainda dizer algumas palavras sobre o *seriatus*.

Com frisei n'uma nota inclusa n'um trabalho sobre o caruncho do café, que será publicado no volume IX dos *Archivos da Escola Superior de Agricultura*, não fosse EGGERS ter identificado os especimens que lhe foram remettidos por MOREIRA com o typo de EICHHOFF e não poderia pensar em tal identidade.

Uma especie que realmente apresenta grandes affinidades com esses nossos especimens, é a que foi descripta por NÖRDLINGER (Nachtr. zu Ratzeburg Forstinsekten, 1856, p. 74) com o nome — *Bostrichus plumeriae*, de material colhido na Venezuela.

Mais tarde EICHHOFF (Ratio Tomic., 1879, p. 164) reestudou-a, sob o nome de *Stephanoderes plumeriae*, com material colhido na Bahia.

Ora, segundo BLANDFORD, *H. plumeriae* "is very closely allied to *H. seriatus*, and is perhaps hardly distinct". Seria pois conveniente verificar-se se *seriatus* é ou não identico a *plumeriae* e, no caso de serem especies distinctas, a qual das duas especies devem realmente pertencer os

---

(5) HOPKINS, A. D., Classification of the Cryphalinae with descriptions of new genera and species. 1915, U. S. Dept. of Agric., Rep. n. 99 (Bur. of Entom.), p. 21.

(6) HOPKINS, A. D., Preliminary classification of the Superfamily Scolytoidea. 1915, U. S. Dept. Agric., Bur. Entom. Techn. Ser. No. 17, T. II, p. 222.

exemplaras brasileiros. E as minhas duvidas são tanto mais admissiveis, porquanto recentemente (1925) STAHEL observou tambem na Guyana Hollandeza um *Stephanoderes* muito semelhante ao *hampei*, porem de especie differente, julgada ser o *S. plumeriae* NÖRDL.

Havendo na collecção entomologica da Escola Superior de Agricultura exemplares de *seriatus* obtidos de sementes de algodoeiro, que foram quasi totalmente roidas pelo insecto, é de suspeitar-se que o *S. gossypii* HOPKINS, de Cuba, seja identico aos nossos especimens e, consequentemente, tambem identico a *plumeriae* ou a *seriatus*.

SIMMONDS (7) diz ter encontrado em sementes de algodão um *Hypothenemus gossypii* SAMP. Creio, entretanto, que se trata de um *nomen nudum*, pois, não me consta que SAMPSON tenha descripto qualquer *Hypothenemus* com esse nome.

NOTA ADDICIONAL.

Já estava escripta a nota que acabo de apresentar quando, por gentileza do meu collega CARLOS MOREIRA, tive o prazer de examinar os ipideos da collecção do Instituto Biologico de Defesa Agricola. Ha nessa collecção uma boa serie de especimens de *seriatus*, remettidos de varios pontos do paiz (D. Federal, Estados do Rio, São Paulo, Minas, Bahia e Parahyba) e colhidos em fructos, e galhos de varias plantas (algodoeiro, cacaoeiro, cafeeiro, coqueiro, figueira da India e laranjeira). Taes especimens são perfeitamente semelhantes aos que estão na mesma collecção, determinados por EGGERS como—*S. seriatus*. Comparei-os todos com 9 exemplares de *Stephanoderes plumeriae*, determinados por MARSHALL, tambem guardados na mesma collecção e obtidos de café colhido em Paramaribo (Guyana Hollandeza) em Julho de 1925.

Dissequei tambem um destes ultimos exemplares, especialmente para examinar a spermatheca. Desse estudo resultou ficar convencido que o *S. seriatus* é identico ao *S. plumeriae*. Sómente na côr dos especimens é que se nota alguma differença. Nos de *seriatus*, determinados por EGGERS, ella é, em geral parda, mais ou menos escura, emquanto que nos de *plumeriae* é quasi negra. Aliás nos demais especimens de *seriatus*, como em outros ipideos, a côr varia, mesmo em insectos sahidos de um mesmo material, havendo exemplares completamente negros como os de *plumeriae*. Todavia, pelos caracteres morphologicos externos e pelo aspecto da spermatheca não ha, como verifiquei, differenças notaveis entre os exemplares considerados como pertencentes a duas especies distinctas. Assim, a meu ver, *seriatus* é identico a *plumeriae*.

Dou, a seguir, as informações bibliographicas relativas a especie em questão.

---

(7) SIMMONDS, H. W., Cotton insect pests recorded in Fiji, 1924, Agric. Circ. Dept. Agric. Fiji, V., 1, pp. 61-62. Suva, Jan.-Jun.

Hypothenemus plumeriae (NÖRDLINGER).

Bostrychus plumeriae NÖRDLINGER, Nachtr. zu Ratz. Forstins., 1856, p. 74.

Cryphalus plumeriae, FERRARI, Die forst-und baumzuchtschädlichen Borkenkäfer, etc., 1867, p. 17.

Cryphalus (*Ernoporus*) *plumeriae*, FERRARI, Nachträge, Berichtigungen und Aufklärungen uber zweifelhaft gebliebene Arten in: "die forst-und baumzuchtschädlichene Borkenkäfer (Tomicidi LAC.) etc. Berl. ent. Zeitschr., XII, 1868, p. 252. (=*Ern. jalapae* LETZN., 1844).

Stephanoderes seriatus EICHH., Neue exotische Tomiciden Arten, XV, 1871.

Stephanoderes seriatus, EICHH., Rat. Tomic., 1879, p. 158.

Stephanoderes plumeriae, EICHH., Rat. Tom., 1879, p. 164.

Stephanoderes polyphagus COSTA LIMA, Jornal do Commercio, Rio de Janeiro, 19 de Outubro de 1924.

Stephanoderes fallax COSTA LIMA, Jornal do Brasil, Rio de Janeiro, 23 de Outubro de 1924.

« « , Chacaras e Quintaes, S. Paulo, XXX, 5, 15 de Novembro de 1924, p. 414, fig. 1.

Stephanoderes largipennis PIZA JUNIOR, Rev. Soc. Rur. Bras., São Paulo, Novembro, 1924.

Stephanoderes fallax, BONDAR, As brocas do café, Correio Agricola, III, 1, 11-13, Bahia, Janeiro, 1925.

Stephanoderes largipennis, PIZA JUNIOR, Uma especie nova do genero *Stephanoderes* (*S. largipennis* sp. n.), Outubro 1924 (Publicado em 1925).

Stephanoderes seriatus, MOREIRA, C., A broca do café, *Stephanoderes coffeae* HAG., Instituto Biologico de Defeza Agricola, bol. 3, 1925, p. 8.

« « , COSTA LIMA, Notas sobre o *Stephanoderes seriatus* EICHHOFF, Bol. Minist. Agric. Ind. e Comm., Rio de Janeiro, XIV, 2, Fev. 1925, 194-199 e XIV, 3, Março 1925, 365-368.

« « , CAMINHA FILHO, Relatorio, etc., do Auxiliar do Inspector Agric., Bol. Minist. Agric. Industria e Comm., XV, (1), 2, 122-127, Fever. 1926.

« « , OLIVEIRA FILHO, Contribuição para o conhecimento da broca do café. Comm. do Est. e Debell. da Praga Cafeeira, São Paulo, publ. 20, 1927, pags. 17, 39, 44, 45, 47, 48 e 49.

« « , MOREIRA, C., Insectos nocivos ao cafeeiro no Brasil. Rev. Soc. Rur. Bras., VIII, 92, 24-25, Jan. 1928.

« « , PIZA JUNIOR, *Stephanoderes hampei* (O caruncho do café). Publ. da Secret. da Agric. Industr. e Comm. do Estado de S. Paulo, 1928, 42-44.

« « , COSTA LIMA, Notas sobre o *Stephanoderes seriatus* EICHHOFF, Arch. Esc. Sup. Agric. Med. Veter., IX, 1928 (no prelo).

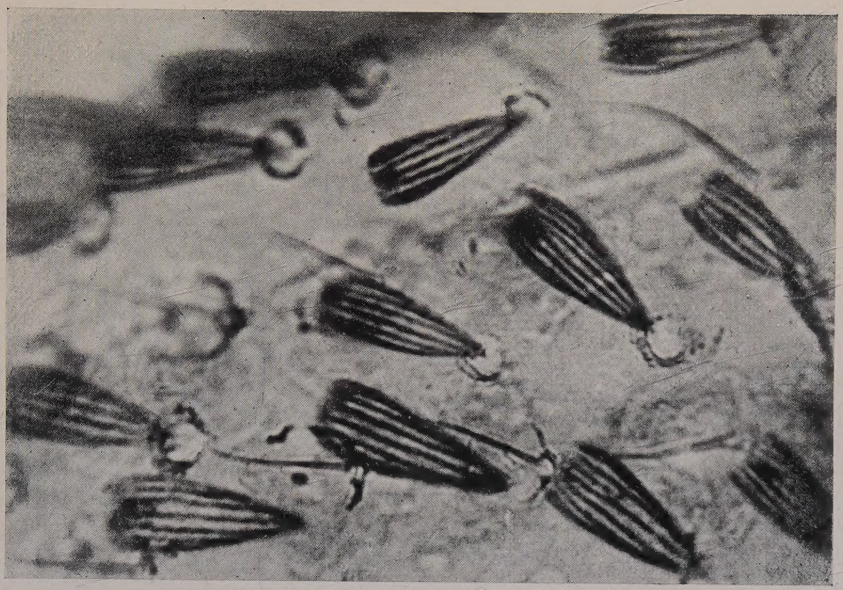


Fig. 2—Escamas e cerdas elytraes em *H. plumeriae* (*H. seriatus*).

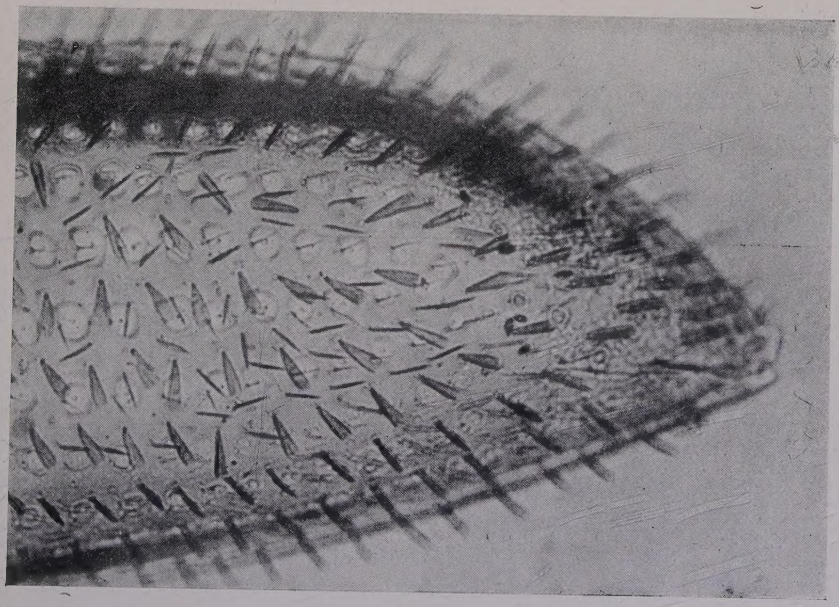


Fig. 3—Parte apical de um dos elytros de *H. heterolepis*.

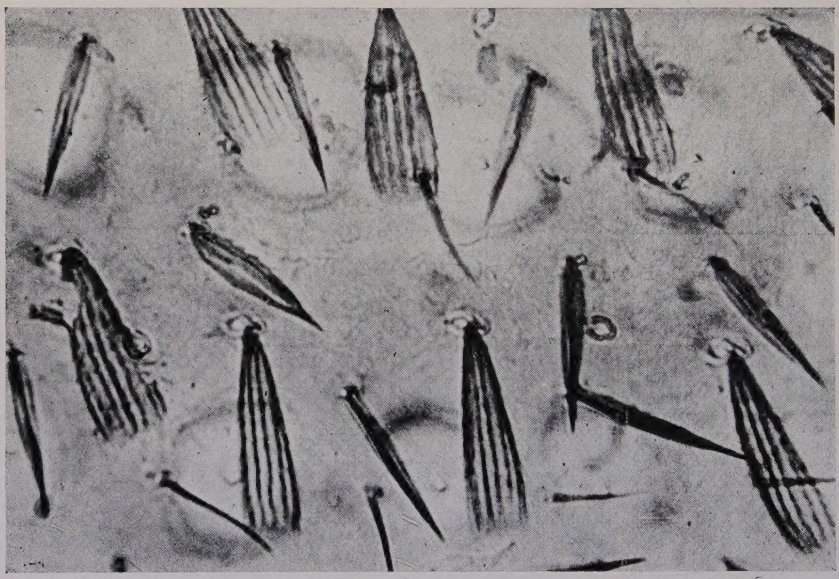


Fig. 4—Escamas e cerdas elytraes em *H. heterolepis.*

Fig. 5

Fig. 6

Fig. 7

Fig. 8

Fig. 9

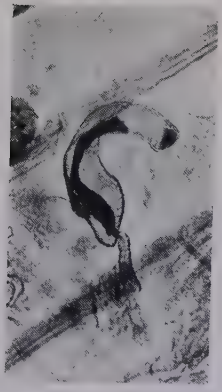


Fig. 10

Fig. 11

Fig. 5—Spermatheca de *H. hampei* (exemplar de Java).
Fig. 6— « « « « (« « S. Paulo).
Fig. 7— « « *H. plumeriae* (—*H. seriatus*) (exemplar de Carmo).
Fig. 8— « « « « (exemplar de laranjas de Nova Iguassú).
Fig. 9— « « « « (do Rio).
Fig. 10— « « *H. heteroclepis*.
Fig. 11— « « *H. hispidulus*.

Encontrei tambem, na referida collecção, 3 exemplares de *Hypothenemus*, 2 de Cantagallo (E. do Rio) e um de Deodoro (D. Federal), retirados de café, que me parecem pertencer á especie descripta por EICHHOFF, de exemplares de Nova Granada, sob o nome – *Stephanoderes opacus*.

Nesta especie, que é relativamente grande, pois mede 2 mm. de comprimento, ha na margem apical do prothorax 2 dentes proeminentes, e não varios dentes, como se observa na maioria das especies de *Hypothenemus*. Os referidos exemplares são de côr negra e apresentam tambem caracteres de accôrdo com a descripção de *H. validus* BLANDFORD, aliás considerado pelo autor, que poude comparal-o com um especimen typico de *opacus*, como sendo talvez uma variedade desta especie.

Finalmente, examinei 5 exemplares, ainda da mesma collecção, de *H. fuscicollis* (EICHHOFF) (*Stephanoderes*), um delles determinado por EGGERS, todos procedentes de Cataguazes (Minas) e colhidos em bagas de cafeeiro pelo eng. agron. EDGARD DA SILVA CALDEIRA (Julho de 1925).

Trata-se de uma outra especie de *Hypothenemus* que, pelo tamanho (1,70 mm.) e côr, pode tambem ser confundida com o *H. hampei*. Todavia é muito facil distinguil-a do caruncho praga do café.

As rugosidades ou dentes prothoraxicos, embora bem salientes, são menos numerosos e mais esparsos que em *hampei*; o bordo apical do prothorax apresenta sómente 2 dentes e não 4 ou mais como *hampei*; os elytros apresentam uma pontuação finissima e não relativamente larga e profunda como em *hampei* e *plumeriae*, alem disso são ornados, principalmente na parte declive, de cerdas pallidas, mais longas e finas que as de *hampei*.

Manguinhos, Novembro de 1928.

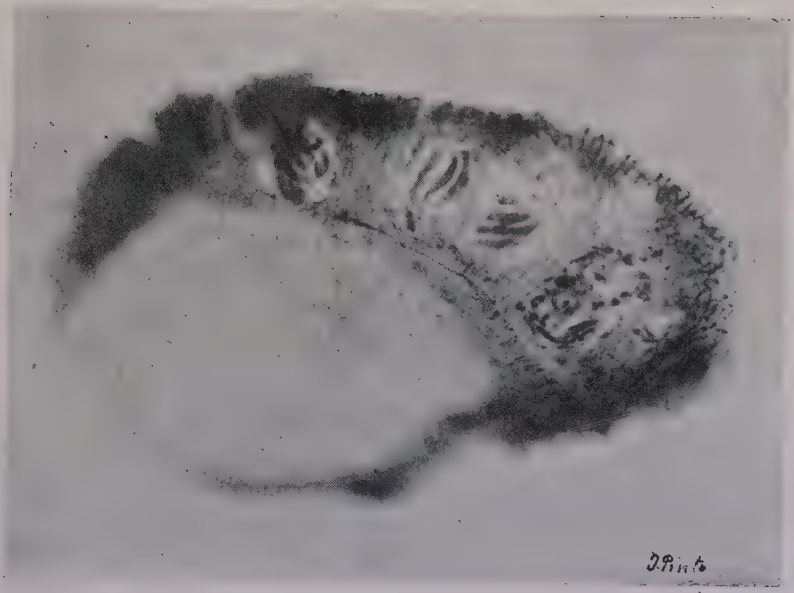
Sobre os cogumelos da piedra brazileira

Pelos Drs. O. DA FONSECA e A. E. DE ARÊA LEÃO.

Em cerca de seis annos reunimos no Laboratorio de Mycologia do Instituto Oswaldo Cruz material brazileiro de vinte e oito casos de piedra dos cabellos, casos por nós mesmos observados no Rio de Janeiro ou communicados dessa cidade pelos Drs. EDUARDO RABELLO, ALCIDES GODOY e FLAVIO DA FONSECA, da Bahia pelo Dr. OCTAVIO TORRES, de Santos pelo Dr. SAMUEL LEÃO DE MOURA, de Cuyabá pelo Dr. EPAMINONDAS e de Bello Horizonte pelo Dr. AROEIRA NEVES. A pequena vitalidade dos parasitos nos nodulos de piedra impediu que de muitos casos pudessemos obter culturas.

Devemos notar que todos os casos observados eram perfeitamente comparaveis, os nodulos caracteristicos em torno dos cabellos apresentando sempre o mesmo aspecto, negros, duros, muito adherentes ao pello, de pequenas dimensões e fórma arredondada, os maiores mostrando, tanto nos preparados de pellos clarificados e dissociados a quente na potassa a 40 o/o ou no lactophenol de AMMAN, como nos córtes histologicos, as formações especiaes reconhecidas e descriptas em 1911 por PARREIRAS HORTA. Este ultimo autor mostrou que os nodulos da piedra observada no Brazil incluiam formações arredondadas especiaes, que chamou *cystos* e que continham cada uma varios elementos fusiformes ciliados. A importancia que para a systematica tinha essa verificação levou BRUMPT a separar sob o nome de *Trichosporum hortai* o cogumelo da fórma brazileira de piedra do da fórma colombiana, pelos autores geralmente denominado de *Trichosporum giganteum*. Temos a impressão de que os casos colombianos de piedra não têm sido sufficientemente estudados nestes ultimos decennios para que se possa affirmar a não existencia nelles das fórmas cysticas descriptas por HORTA. Parece-nos, ao contrario, muito mais provavel que as manchas claras arredondadas que DESENNE descreveu ha tanto tempo nos casos da Colombia não sejam outra coisa mais do que os cystos encontrados por HORTA e por elle bem descriptos nos casos do Brazil. Si assim fôr, será necessario procurar outros fundamentos para a distincção entre as duas especies. O que, porêm, se pode concluir desde logo do estudo da litteratura sobre os casos europeus de piedra e da observação directa dos casos brazileiros é que, clinica e parasitologicamente, piedra européa e piedra brazileira são tão differentes que não se podem ver motivos para a collocação dos parasitos respectivos num mesmo genero. Os cystos descriptos por HORTA têm toda a apparencia de verdadeiros ascos e, mesmo que com taes formações não possam elles ser identificados, sua presença basta para fazer separar nitidamente os parasitos da piedra brazileira em um genero aparte.

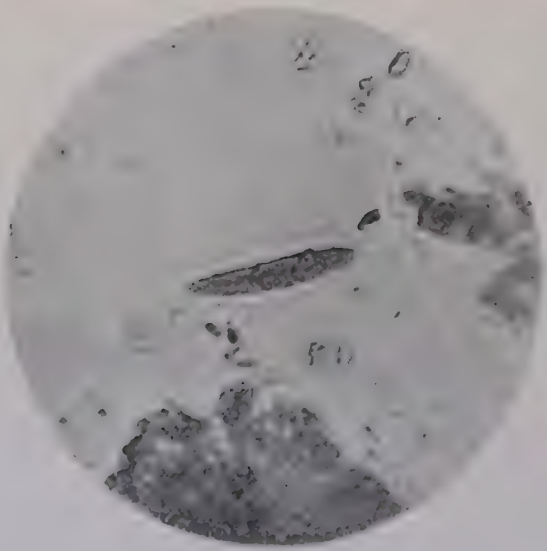
Dos casos mais recentes de que obtivemos material, isolámos as duas fórmas culturaes já conhecidas dos parasitos da piedra sul-americana. Uma, primeiro descripta por EDUARDO RABELLO, depois por PARREI-



Figs. 1 e 2—Cortes transversos de nodulos peripillares em um caso de piedra brazileira. Vêm-se os cystos descriptos por HORTA contendo espóros fusiformes encurvados.

Figs. 1 and 2—Transversai sections of hair nodules in a Brazilian case of piedra. The cysts described by HORTA may be seen, containing curved fusiform spores.

Microphot. J. Pinto



Figs. 3 e 4—Espóros fusiformes da *Piedraia hortai* em cultura de dois mezes, em cenoura.

Figs. 3 and 4—Fusiform spores of *Piedraia hortai* in two months old culture on carrot.

Microphot. J. Pinto

RAS HORTA, dá colonias quasi negras, seccas, recobertas de pellos, a ella correspondendo a designação creada por BRUMPT de *Trichosporum hortai*. A outra, que JUHEL-RENOY foi o primeiro a descrever dá colonias brancas ou amarelladas, glabras, seccas ou humidas, de superficie rugosa e ás vezes cerebriforme, aspecto que a approxima das especies européas e asiaticas do genero *Trichosporum*. As culturas dessa ultima fórma têm sido muito pouco estudadas. E' de notar que, de um mesmo caso de piedra se podem isolar as duas fórmas culturaes acima referidas. Esse facto deixa aberta a questão de saber qual das duas fórmas de cogumelo isolado é o verdadeiro formador dos nodulos piedricos.

Nas amostras que dão colonias quasi negras e correspondendo á descripção do *Trichosporum hortai*, acabamos de verificar uma particularidade interessante. Mostram ellas nas velhas culturas em cenoura, datando de cerca de dois mezes, espóros fusiformes, ás vezes ondulados, geralmente encurvados, de coloração amarella-esverdeada, extremidades afiladas e se continuando cada uma com um delgadissimo appendice filamentoso de 30 ou mais micra de comprimento, hyalino e mais ou menos rectilineo. Esses espóros que medem de comprimento 30 micra por 10 de largura, são identicos aos encontrados nos nodulos peripillares nos casos de piedra entre nós observados. Sua presença na fórma parasitaria e na fórma cultural do cogumelo productor da piedra servirá para caracterisar um novo genero que aqui estabelecemos, para elle propondo o nome de *Piedraia, n. g.* A especie typo desse novo genero será a *Piedraia hortai* (BRUMPT, 1913), no caso de não ser essa especie synonyma do *Trichosporum giganteum* BEHREND, 1890, productor da piedra da Colombia.

(Laboratorio de Mycologia do Instituto Oswaldo Cruz e Laboratorio da Clinica Dermatologica da Faculdade de Medicina do Rio de Janeiro).

On the fungus of Brazilian piedra

By O. DA FONSECA and A. E. DE ARÊA LEÃO.

During some six years, we have collected in the Mycological Laboratory of the Oswaldo Cruz Institute, material from twenty eight Brazilian cases of hair piedra, which cases have been either observed by ourselves in Rio de Janeiro or have been communicated to us from the same place by Professor EDUARDO RABELLO and Drs. ALCIDES GODOY and FLAVIO DA FONSECA, from Bahia by Dr. OCTAVIO TORRES, from Santos by Dr. SAMUEL LEÃO DE MOURA, from Cuyabá by Dr. EPAMINONDAS and from Bello Horizonte by Dr. AROEIRA NEVES. The small vitality of the parasites in the nodules of piedra, prevented us from being able to obtain cultures from several of these cases.

We must point out that all the observed cases were perfectly similar, the characteristical nodules around the hair showing always the same appearance: black, hard, very adhering to the hair, of small size and more or less round-shaped. In all our cases, the biggest piedra nodules would show as well in preparations of hair clarified or dissociated by heating in potash at 40 % or in AMMAN lactophenol, likewise in histologic sections, the special formations which were described in 1911 by PARREIRAS HORTA. This latter author found out that the nodules of piedra observed in Brazil included special round-shaped formations, which he named "cysts", each of which contained a few ciliated fusiform spores. The importance of such discovery induced BRUMPT to separate, under the name of *Trichosporum hortai*, the Brazilian from the Columbian form of piedra, the latter being generally known as *Trichosporum giganteum.*

We feel that these last years Columbian piedra has not been investigated enough to be sure that in it there are not the cystic forms such as described by HORTA.

It seems more probable, on the contrary, that the round bright spots which DESENNE, so long ago, described in the Columbian cases, are nothing else but the cysts found and thoroughly described by HORTA in the Brazilian cases.

Such being the case, it will be necessary to find other foundations for distinguishing both species of fungi. A conclusion, however, to be drawn already from the study of the literature on European piedra as also from direct observation of the Brazilian cases is that, clinically and parasitologically, European and Brazilian piedra are to such extent different from each other, that even there cannot be seen any reason to place the respective parasites in just one genus. Cysts, as described by HORTA, have, all of them, the appearance of real asci and even if they could not be identified with such formations, their existence is enough to clearly segregate the parasites of Brazilian piedra into a separate genus.

Of the most recent cases, from which we had material at hand, we isolated the two cultural forms, already known of the parasites of the South American piedra. One, first described by EDUARDO RABELLO, afterwards by PARREIRAS HORTA, gives almost black, dry colonies, covered with aerial hyphae. To this one the name *Trichosporum hortai* created by BRUMPT should be applied. The other one, which JUHEL-RÉNOY described for the first time, produces dry or wet, cerebriform, whitish-yellow colonies. Its appearance turns it rather kindred to European and Asiatic species of the genus *Trichosporum*. The cultures of the latter form have been little studied. It should be emphasized that cultures of both types may be obtained from just one piedra case. This leaves open the question which one of the cultivated fungi is the real agent of the piedra nodules.

In the specimens which develop almost black colonies and correspond to the description of *Trichosporum hortai*, we have just verified an interesting peculiarity. They show in old cultures on carrot, some two months old, fusiform spores, curved, of a greenish-yellow shade, each one with acute ends prolongated by a very thin, filamentous and hyaline appendix, 30 micra in lenght. These spores, which measure 30 micra in length against 10 in width, are identical to those found in the hair nodules in the cases of piedra observed in Brazil. Their presence in the parasitic and cultural forms of the fungus producing piedra, will be used to distinguish a new genus which we establish, proposing it to be named *Piedraia n.* g. The type especies of this new genus will be *Piedraia hortai* (BRUMPT, 1913) if this species is not a synonymous of *Trichosporum giganteum* BEHREND, 1890, the agent of Columbian piedra.

(Mycological Laboratory of the Oswaldo Cruz Institute and Laboratory of the Dermatological Clinics of the School of Medicine, Rio de Janeiro).

Contribuição ao estudo dos aleyrodideos da subfamilia ALEURODICINAE

Pelo Dr. A. da COSTA LIMA.

O estudo das thecas pupaes ou pupas (como habitual e impropriamente se as designa) de todas as especies conhecidas de *Aleurodicus*, demonstra que *A. anonae* MORGAN, *A. dugesii* COCKERELL, *A. neglectus* QUAINT. & BAKER, e *A. flumineus* HEMPEL, constituem um grupo perfeitamente distincto das demais que constituem esse genero.

De facto, nessas especies, ha 3 pares posteriores de póros ciriparos abdominaes bem menores que os 4 anteriores, como aliás se observa em outras especies, porem o 5º póro fica situado numa recta traçada do 4º ao 6º.

O *A. anonae*, embora defficientemente descripto pelo autor, de material colhido em *Anona muricata* e em *Richardia pacifica* em Demerara, é considerado a especie typo do genero *Aleurodicus*. A especie descripta por COCKERELL sob o nome de *A. dugesii* é, sem duvida, bem differente de *A. anonae*. O mesmo, entretanto, não se póde dizer com relação ao *A. neglectus*, que, segundo QUAINTANCE e BAKER, differe de *A. anonae* pelo aspecto das azas dos adultos, hyalinas nesta ultima especie e manchadas em *neglectus*. A meu vêr essa differença não tem grande valor taxionomico, pois, nas especies de azas maculadas, alem das manchas variarem na forma e na posição, ás vezes não são muito evidentes ou mesmo desapparecem.

Tenho em mãos preparados de machos e femeas do *flumineus*, uns feitos por HEMPEL e outros por mim, de uma parte do material que serviu a este para descrever essa especie, e se em algumas dessas formas aladas as azas se apresentam evidentemente manchadas, n'outras as manchas são quasi imperceptiveis, havendo mesmo um macho cujas azas são totalmente immaculadas.

Se, pois, é essa a unica differença entre *neglectus* e *anonae*, não me parece razoavel que se as considere especies differentes, mórmente quando se sabe que as pupas de ambos esses aleyrodideos se assestam principalmente em especie de genero *Anona*.

BAKER e MOLES (1), referindo-se ao *Aleurodicus* descripto por HEMPEL sob o nome de *A. flumineus*, suggeriram a possibilidade desta especie sêr identica a *A. neglectus*. D'ahi BONDAR, provavelmente baseado nesta opinião, têr incluido o *A. flumineus* na synonymia de *A. neglectus*.

Entretanto, a julgar pelos desenhos apresentados por QUAINTANCE e BAKER para o *A. neglectus*, não se pode chegar tão facilmente a tal conclusão.

Como disse, possuo topotypos e alguns cotypos do *A. flumineus*, e comparando-os com figura da pupa do *A. neglectus* observei differenças

notaveis, não só no aspecto do orificio vasiforme e orgãos que lhe são annexos, como na disposição dos póros caudaes.

Em *neglectus*, uma linha transversal, tangenciando o bordo posterior do orificio vasiforme, attinge, de cada lado, o penultimo ou 5º póro composto, de modo que o ultimo (6º) fica bem para traz dessa linha. No *flumineus*, em uma serie de exemplares que examinei, os dois ultimos póros estão sempre adiante daquella linha.

Ademais, como se póde vêr na figura que apresento (fig. 1) tanto o orificio vasiforme, como a lingula, são bem differentes nas duas especies.

Emquanto, pois, não me fôr dado examinar especimens typicos de *neglectus*, pelos quaes poderei avaliar melhor as differenças apontadas, continuarei a considerar *A. flumineus* como especie differente de *A. neglectus*, pelo mesmo motivo porque se admitte *neglectus* como especie distincta de *anonae*.

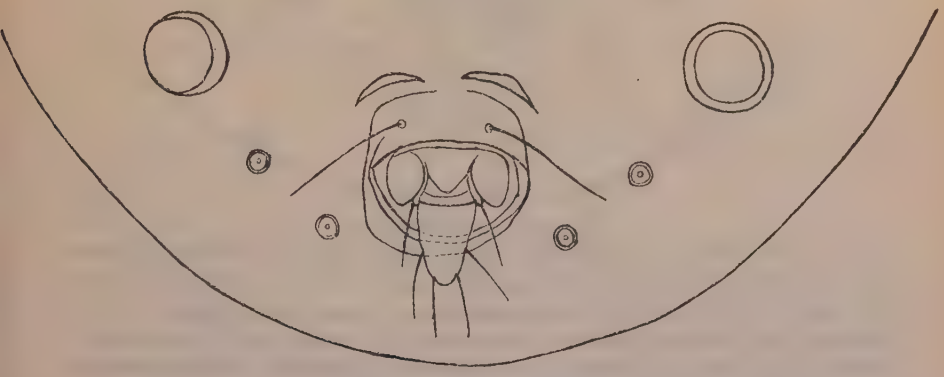


Fig. 1—*Aleurodicus fluminsus.*

Ha tempos recebi do eng. agr. J. H. ROEDER uma folha da planta vulgarmente conhecida pelo nome de lixeira (*Curatella americana* L., segundo me informou o botanico GERALDO KUHLMANN), colhida na fazenda Agua Azul, em Monte Alegre (Triangulo Mineiro), apresentando pupas de uma especie de *Aleurodicus*. Infelizmente não as acompanhavam formas adultas.

O alongamento extraordinario dos filamentos cereos que emergem dos 8 grandes póros compostos abdominaes dessas pupas e a disposição destas em series parallelas ao longo das nervuras secundarias, deixando, entre ellas, espaços perfeitamente limpos de cera, bastaria para se distinguir esta bella especie das demais. Dou, entretanto, linhas abaixo, uma descripção detalhada do insecto.

Aleurodicus magnificus n. sp. (figs. 2, 3 e 11)

Pupa: Dorso encoberto por densa secreção cerea, sob a forma de fitas um tanto largas, que se curvam, como petalos de um chrysanthemo, a pouco mais de meio millimetro de altura. Ao redor e formando uma orla de meio millimetro de largura ha uma camada de cêra cotonosa, constituida por filamentos de cêra finissimos e muito unidos. Emergindo da

massa central e oriundos dos 4 pares de grandes póros compostos abdominaes, ha 8 filamentos cereos, cylindricos, vitreos, de 6 centimetros de comprimento, ou mesmo um pouco mais longos, verticalmente dirigidos.

Entre as nymphas, que se assestam ao longo das nervuras secundarias e na pagina inferior da folha, não ha induto cereo revestindo a superficie da folha, como se observa nas folhas infestadas pelo *A. neglectus* e pelo *A. flumineus*.

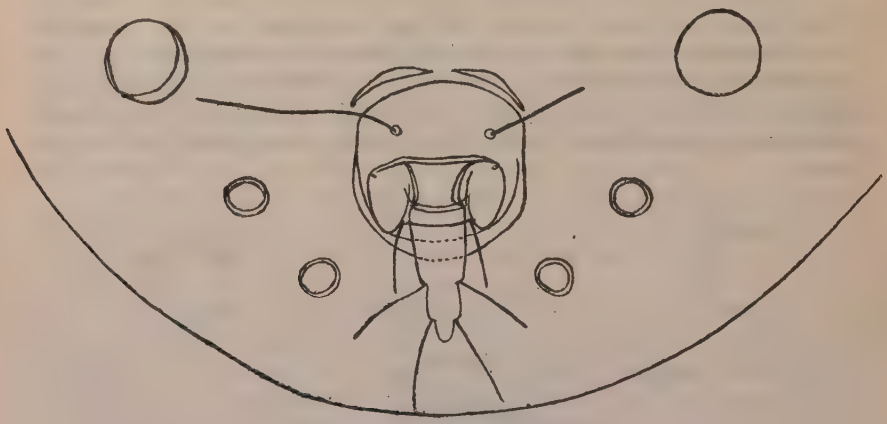


Fig. 2—*Aleurodicus magnificus*.

A côr varia do amarello ao ocraceo. Em todas as preparações a margem se apresenta um pouco dobrada em quasi toda a extensão, porém não como em *Lecanoideus*. Parallelamente ao longo da margem ha uma carreira de póros glandulares muito pequenos e contiguos. Para dentro, 3 carreiras de póros bem maiores, de contorno sub-circular, divididos ao meio por um tenue septo, ao longo do menor eixo. Na zona submarginal em que se acham estes póros ha, entre elles, pequenos póros simples circulares. Finalmente, no dorso, vêm-se tambem numerosos póros simples circulares, maiores que os pequenos da zona submarginal, porém menores que os póros septados dessa zona, excepto os que se acham entre os 4 póros compostos caudaes, que se apresentam pouco mais ou menos tão calibrosos como os póros septados.

Ha 7 pares de póros compostos. Os 4 pares abdominaes, os maiores (0,055 mm.), são iguaes. Os do par anterior ou cephalico, embora apresentando estructura identica a daquelles, são de menor diametro (0,045 mm.). Os 2 pares caudaes são subiguaes, porém bem menores que os outros e de estructura differente.

Além de algumas cerdas thoraxicas e do par situado adiante do orificio vasiforme, ha, ao redor do corpo e implantadas na zona submarginal, 11 cerdas de cada lado, sendo as dos 2 pares caudaes as mais robustas. Entre a penultima e a ultima caudaes ha ainda uma cerda de cada lado, inserida na face ventral porém menos robusta que aquellas.

Os caracteres do orificio vasiforme e dos orgãos que lhe são annexos podem sêr observados nas figuras 2 e 3.

Comprimento: 1,3 mm., largura: 1,02 mm.

Cotypos: preparados ns. 266, 267 e 332 da collecção entomologica do Instituto Oswaldo Cruz.

Revendo uma pequena collecção de pupas de aleyrodideos, que montei em laminas quando trabalhava no Serviço de Vigilancia Sanitaria Vegetal do Instituto Biologico de Defesa Agricola, encontrei varias especies interessantes que estudarei nas linhas a seguir.

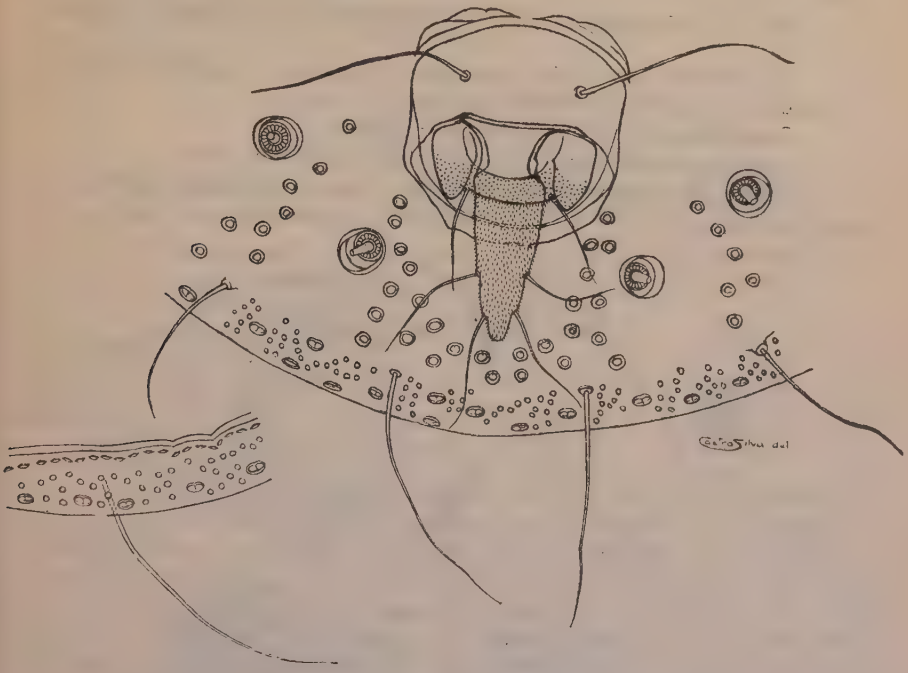


Fig. 3 — *Aleurodicus magnificus.*

Assignalo em primeiro lugar uma especie de *Aleurodicus*, que apanhei em 1921 sobre folhas de laranjeira na chacara do Sr. ARLINDO GUIMARÃES, em S. Lourenço (Sul de Minas).

Infelizmente nem todos os 6 exemplares desta especie, montados em 2 laminas, estão bem conservados, pois tinham sido invadidos pelo mycelio de um fungo entomophyto. Todavia em alguns ainda podem sêr perfeitamente observados os principaes detalhes estructuraes e, por elles, verifiquei que as pupas em questão pertencem a uma nova especie que aqui descreverei.

Aleurodicus Bondari n. sp. (fig. 4)

Os exemplares colhidos não apresentavam secreção cerea, provavelmente por terem sido parasitados.

Parte anterior do corpo mais attenuada que a posterior. Não se notam póros simples, nem na peripheria, nem na parte central. Vêm-se bem 7 pares de póros compostos, porém, quasi todos, de estructura differente.

Os 3 pares abdominaes anteriores são iguaes e relativamente grandes. Os 2 póros cephalicos são, pouco mais ou menos, de calibre igual ao

daquelles, porém de estructura bem differente, sendo esta entretanto identica a dos póros do 4º par abdominal. Estes, não só são um pouco menos calibrosos que os dos 4 pares anteriores, como se acham situados um pouco para fóra da posição em que geralmente se os encontra nas outras especies de *Aleurodicus*.

Os dois pares caudaes são bem menores que os demais e iguaes entre si.

Os caracteres do orificio vasiforme e dos orgãos appensos ao mesmo pódem ser apreciados na figura 4.

Comprimento: 1,15 mm., largura: 0,20 mm.

Cotypos: preparados ns. 1 e 2, ha pouco mencionados.

Dedico esta especie ao meu collega e amigo GREGORIO BONDAR pelo muito que fez para o conhecimento dos aleyrodideos do Brasil.

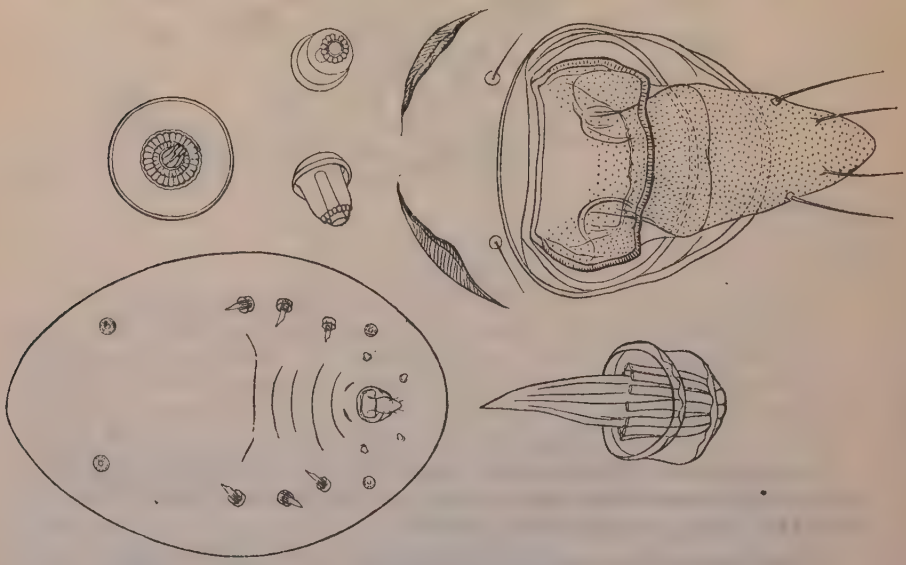


Fig. 4—*Aleurodicus Bondari.*

Ainda na referida collecção tive o ensejo de determinar mais as seguintes especies da subfamilia Aleurodicinae.

Aleurodicus flavus HEMPEL

HEMPEL (5), p. 4.
« (6), p. 1922.
BONDAR (2), p. 68.

Prep.: 246, 247, 299, 300, 304 e 305 (Serv. Vig. Sanit. Veget.). Material colhido em uma planta sylvestre, em Pinheiro (E. do Rio) e em folhas de *Begonia*, no Horto Botanico de Nictheroy.

Na collecção do Instituto Oswaldo Cruz ha tambem 5 pupas desta especie montadas na prep. n. 345.

Aleurodicus cocois (CURTIS)

QUAINTANCE & BAKER (7), p. 47.

1 exemplar, juntamente com outro de *A. maritimus*, no preparado n. 343 (Serv. Vig. Sanit. Veget.).

Material colhido em folhas de oiti (*Moquilea tomentosa*), Praia de Botafogo (Rio).

Aleurodicus pulvinatus (MASKELL)

QUAINTANCE & BAKER (7), p. 66.

Varios exemplares nos preparados ns. 203 e 341 (Serv. Vig. Sanit. Veget.).

Material em folhas de uma planta sylvestre do Horto Botanico de Nictheroy e de oiti (*Moquilea tomentosa*), Rio de Janeiro.

Aleurodicus maritimus HEMPEL

(= *Aleurodicus linguosus* BONDAR)

HEMPEL (6), p. 1123.
BONDAR (2), p. 76.

Trata-se de uma especie bem caracteristica, não só pelo aspecto e disposição dos póros glandulares, como pelo extraordinario alongamento da lingula, cuja extremidade, em geral, excede o bordo posterior da pupa. Em alguns especimens, entretanto, ella mal attinge esse bordo.

Os exemplares que examinei estão montados nas laminas 245, 313, 342 e 343 (Serv. Vig. Sanit. Veget.) e foram retirados de folhas de uma planta sylvestre de Nictheroy, de guando (*Cajanus indicus*), Nictheroy e de oiti (*Moquilea tomentosa*), Praia de Botafogo (Rio).

Lecanoideus giganteus QUAINTANCE & BAKER

QUAINTANCE & BAKER (7), p. 70.

Varios exemplares nas laminas 214, 222 e 223 (Serv. Vig. Sanit. Veget.), colhidos em folhas de *Rollinia orthopetala* (biribá), remettidas do Pará (na collecção do Instituto Oswaldo Cruz ha tambem material desta especie na lamina n. 334, colhido em Pernambuco pelo Eng. Agr. ULYSSES CAVALCANTE DE MELLO sobre uma planta não determinada.

Leonardius lahillei (LEONARDI)

(? = *Leonardius loranthi* BONDAR)

QUAINTANCE & BAKER (7), p. 33.
BONDAR (2), p. 42 e 44.

Esta especie é commumente encontrada no Rio de Janeiro, no E. do Rio e em S. Paulo sobre folhas de herva de passarinho (*Loranthaceae*).

Os primeiros exemplares que examinei foram apanhados em 1917 sobre herva de passarinho, em Pinheiro (E. do Rio).

Mais tarde remetti alguns exemplares a QUAINTANCE que confirmou a minha determinação.

Na margem da pupa ha uma carreira submarginal de papillas bem visiveis e, para dentro, mais duas outras porém não tão evidentes. No apice do orificio vasiforme ha um póro circular no qual se insere um appendice espiniforme, que, em algnns exemplares, se destaca, ficando apenas o referido póro como se nota na fig. 8*c* apresentada por BONDAR para o seu *Leonardius loranthi.*

Desta especie ha muitos especimens de pupas montadas em balsamo nas collecções do Gabinete de Entomologia da Escola Superior de Agricultura, do Serviço de Vigilancia Sanitaria Vegetal e do Instituto Oswaldo Cruz.

Bakerius phrygilanthi BONDAR

BONDAR (2), p. 35.

Alguns exemplares nas prep. 479, 480, 481 e 512 (Serv. Vig. Sanit. Veget.).

Material colhido em folhas de herva de passarinho (*Loranthaceae*), Santa Cruz (Rio de Janeiro).

Paraleyrodes goyabae (GOELDI) (fig. 12)

BAKER & MOLES (1), p. 624.
BONDAR (2), p. 93.

Examinei varias pupas, que parecem ser desta especie, colhidas em folhas de goyabeira (*Psidium guajava*), de amoreira (*Morus* sp.) e de sapotiseiro (*Achras sapota*). Acham-se montadas nas preparações 291, 314 e 315 (Serv. Vig. Sanit. Veget.).

? **Paraleyrodes singularis** BONDAR (fig. 5)

No preparado n. 509 da collecção do Serviço de Vigilancia Sanitaria Vegetal encontra-se uma pupa de *Paraleyrodes* cujos caracteres, até certo ponto, correspondem á descripção dada por BONDAR para a pupa do *P. singularis.* Sendo, porém, esta descripção defficiente, vejo-me impossibilitado de dizer se o exemplar por mim examinado pertence ou não á especie classificada por BONDAR. Dahi apresentar a descripção e algumas figuras do exemplar em questão, as quaes, no caso de se tratar realmente do *singularis,* serão mais que sufficientes para o reconhecimento dessa especie.

Ha 7 pares de grandes póros compostos: 1 cephalico, 2 abdominaes anteriores pequenos e 4 abdominaes posteriores grandes. Estes iguaes aos cephalicos, os anteriores bem menores que os cephalicos e de estructura differente (no exemplar unico que examinei ha, de um lado, 4 grandes póros abdominaes e 2 pequenos e do outro 3 grandes e 3 pequenos). Para os caracteres desses póros e do orificio vesiforme v. figura 5.

Comprimento: 0,63 mm., largura: 0,44 mm.

Material de folhas de jaboticabeira (*Myrcia jaboticaba*), colhidas pelo Snr. ARNALDO G. MACIEL em Villa Izabel (Rio de Janeiro).

Tratarei em seguida de mais duas especies de *Paraleyrodes*, aliás muito semelhantes entre si, que differem das demais descriptas do Brasil, pelo aspecto dos grandes póros ciriparos, cujo diametro vae gradativamente diminuindo do cephalico ao 4º abdominal.

Como as microphotographias e desenhos que apresento são mais que sufficientes para caracterisação de ambas assignalarei apenas os principaes detalhes morphologicos.

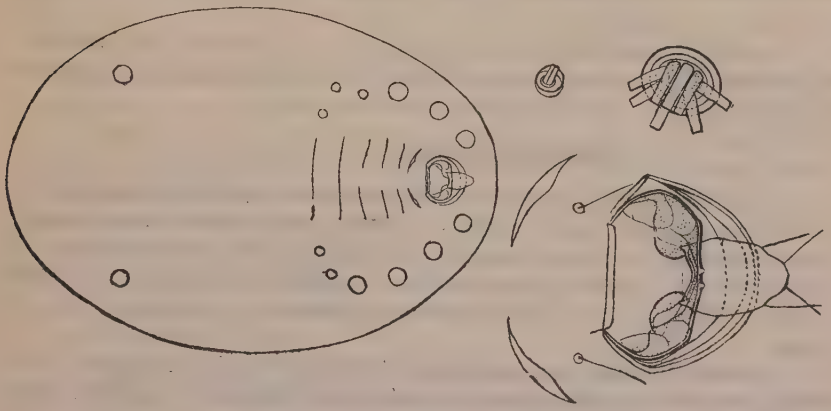


Fig.—5 *(?) Paraleyrodes singularis.*

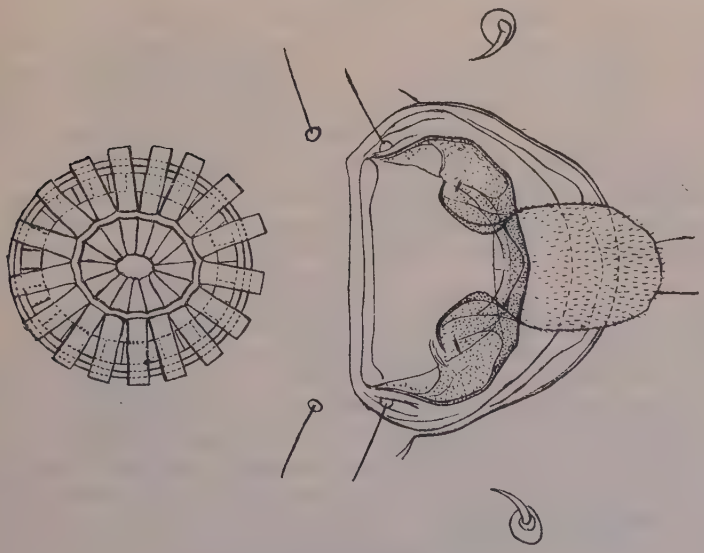


Fig. 6—*(?) Paraleyrodes pulverans.*

? **Paraleyrodes pulverans** BONDAR (figs. 6 e 3)

Comprimento: 0,71 mm., largura: 0,48.

Encontrei as pupas desta especie sobre folha de carrapeteira (*Guarea trichilioides*) na Quinta da Boa Vista. Ao examinal-as tive a impressão

de se tratar do *Paraleyrodes pulverans* BONDAR, pois a descripção das pupas desta especie está mais ou menos de accôrdo com os caracteres observados nos nossos especimens. Todavia BONDAR diz que em *pulverans* os grandes póros ciriparos são iguaes, o que não se observa nas pupas por mim estudadas, cujos póros são desiguaes.

Nesta especie os póros cephalicos, ás vezes, são um pouco maiores que os do 1º par abdominal; apresentam, em geral, 17 ou 18 bastonetes. Os abdominaes anteriores têm 16 ou 17 e os 2 caudaes 12 ou 13 bastonetes.

Material contido nas preparações ns: 41 do Gabinete de Entomologia da Esc. Sup. de Agric. e Med. Veter., 248 e 249 do Serviço Vigilancia Sanitaria Vegetal e 351 do Instituto Oswaldo Cruz.

Paraleyrodes citricolus n. sp. (fig. 7)

Esta especie é muito proxima da precedente, differe, porém, não só pelos caracteres do orificio vasiforme, como pelo aspecto dos grandes póros ciriparos. Os póros cephalicos são um pouco menores que os do 1º par abdominal; aquelles apresentam 23 a 24 placas ou bastonetes e estes 25 ou 27. Os do 2º e 3º pares possuem 21 placas e os do 4º, 15 ou 19 placas.

Holotypo: uma pupa montada na lamina n. 510 do Serviço de Vigilancia Sanitaria Vegetal. Encontrada pelo Snr. ARNALDO GOMES MACIEL sobre folhas de laranjeira (*Citrus aurantium*).

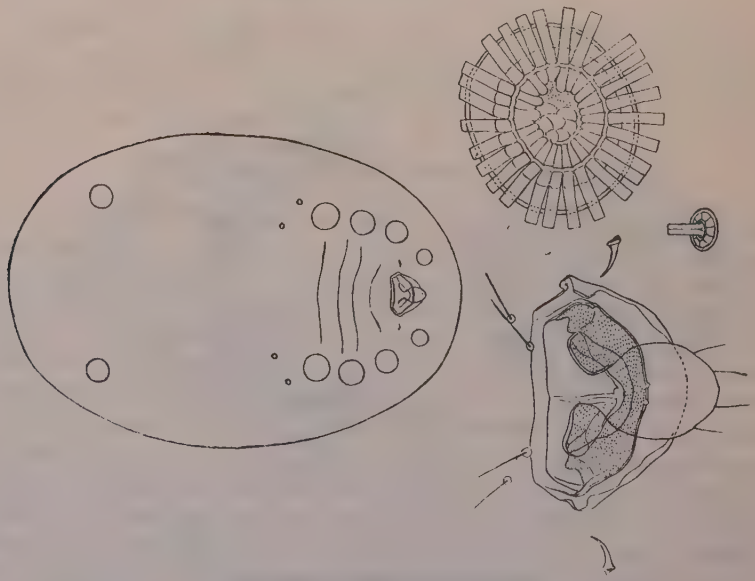


Fig. 7—*Paraleyrodes citricolus.*

Antes de concluir a presente nota devo ainda descrever dois aleurodicineos pertencentes ao genero *Ceraleurodicus* HEMP. Um delles encontrei em folhas de *Nectandra* sp., apanhadas em Therezopolis e cedidas para

exame pelo Dr. FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS. Trata-se evidentemente de uma nova especie do genero *Ceraleurodicus*, a qual dou o nome de *C. Hempeli*, em homenagem a ADOLPH HEMPEL., pelos seus notaveis trabalhos sobre os nossos aleyrodideos. Antes, porem, de mencionar os principaes caracteres desta especie, devo fazer algumas considerações sobre o genero *Ceraleurodicus* e especies que o constituem.

HEMPEL, ao descrever esse genero, fel-o exclusivamente baseado em material que lhe foi enviado por BONDAR. Pelo que se lê no trabalho deste ultimo pesquizador, acompanhavam as pupas, que serviram para diagnose do genero *Ceraleurodicus* e da especie genotypo *C. splendidus*, formas adultas de uma outra especie, provavelmente pertencente a um outro genero (BONDAR). Dahi HEMPEL, ao caracterisar esse genero, ter descripto a pupa de um insecto e o adulto de outro. Como, porem, os aleyrodideos, em geral, são mais facilmente reconhecidos pela morphologia pupal e como HEMPEL apresentou em primeiro lugar a descripção exacta da pupa de uma especie, incontestavelmente nova (*splendidus*), typo de um genero tambem novo (*Ceraleurodicus*), o facto de ter descripto formas adultas que não pertencem a pupa por elle estudada, não invalida o genero por elle creado para essa forma especial de pupa, tanto mais quanto a especie typo do mesmo se encontra no material n. 20.514, guardado na collecção do Museu Paulista.

Tempos depois BONDAR descreveu pupas identicas como pertencentes a uma nova especie (*cinereus*) e creou tambem um novo genero *Radialeurodicus* para as mesmas, descrevendo então as respectivas formas adultas. Ora, de accôrdo com o estatuido no art. 27 das Regras Internacionaes de Nomenclatura Zoologica, embora BONDAR tenha apresentado uma descripção exacta do insecto nas suas principaes formas de desenvolvimento, emendando assim a diagnose apresentada por HEMPEL relativamente ás formas adultas, os novos nomes que apresentou não podem deixar de entrar na synonymia de *Ceraleurodicus*.

Pelas mesmas razões devem ser incluidas na synonymia de *Octaleurodicus nitidus* HEMP., *Aleuronudus induratus* HEMP. e *Pseudaleurodicus bahiensis* HEMP., respectivamente, os seguintes generos e especies, novamente descriptos por BONDAR, *Quaintancius rubrus*, *Pentaleurodicus induratus* e *Pentaleurodicus bahiensis*.

Aliás, o estudo comparado das especies que deviam ser incluidas no genero *Octaleurodicus* (=*Quaintancius*) como as do genero *Ceraleurodicus* (=*Radialeurodicus*), fez-me convicto de que todas constituem um grupo generico unico, quiçá bem homogeneo, não somente pelo aspecto geral das pupas e estructura dos póros ciriparos, como pela configuração das azas, especialmente as anteriores, que apresentam uma reintrancia, mais ou menos evidente, no bordo posterior, ao nivel do apice da media (*M*). D'ahi julgar que *Octaleurodicus nitidus* HEMP. (=*Quaintancius rubrus* BOND.) e *Quaintancius pulcherrimus* (QUAINT. & BAKER) BOND., devem ser incluidos no genero *Ceraleurodicus*.

Fica, pois, este genero constituido pelas seguintes especies: *splendidus* HEMP. (genótypo), *octifer* (BOND.), *assymetrus* (BOND.), *nitidus* (HEMP.) e *pulcherrimus* (QUAINT. & BAKER.).

Ceraleurodicus hempeli n. sp. (figs. 8 e 14)

A especie que vou considerar é bem differente das demais por apresentar apenas um par de póros ciriparos compostos, aliás muito reduzidos, ao nivel do bordo anterior do 3º segmento abdominal. Immediatamente adiante de cada um desses póros, ha alguns póros simples muito pequenos. Na face ventral desse mesmo segmento, porem para fóra do ponto em que se acham os póros glandulares ha pouco referidos e para tráz do apice dos tarsos posteriores, ha um curto appendice, provido de um gancho apical, mais robusto que o gancho tarsal. Taes appendices são tambem encontrados em pupas de outros aleurodicineos, que podem tambem apresentar um outro par de identicos appendices aos lados do orificio vasiforme.

Cerdas finas, de apice um tanto dilatado, dispostas da seguinte forma: 4 pares no meio do corpo (sendo 1 par cephalico e um ao nivel de cada um dos segmentos thoraxicos) e 15 pares de cada lado do eixo longitudinal, ao longo da zona marginal, ora nos raios chitinisados, ora no espaço entre elles.

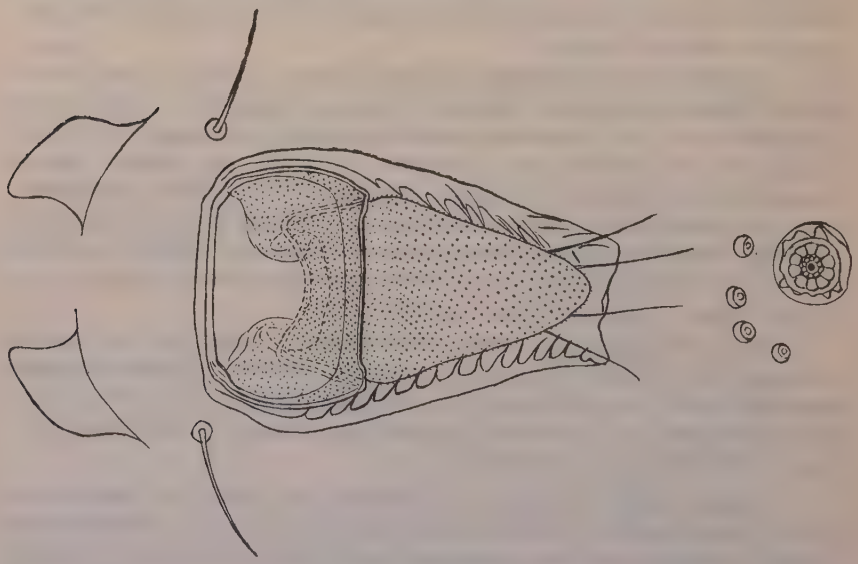


Fig. 8—*Ceraleurodicus Hempeli.*

A margem do corpo é finamente denteada e reforçada de uma carreira de dentes, dentro da qual ha pequenos póros ciriparos que formam uma fileira submarginal continua ao redor do corpo.

O orificio vasiforme e a lingula acham-se bem representados na figura 8.

Comprimento: 2,40 mm., largura: 1,60 mm.

Cotypos: 2 exemplares montados na lamina n. 503 da collecção do Instituto Oswaldo Cruz.

Ceraleurodicus Moreirai n. sp. (figs. 9, 15 e 16)

O outro aleurodicineo, a que ha pouco me referi, é representado por algumas pupas montadas nas laminas 380 e 381 da collecção do Serviço de Vigilancia Sanitaria Vegetal, retiradas de folhas de fructa de conde (*Anona squamosa*), apanhadas n'uma chacara do Rio de Janeiro pelo Eng. Agron. A. F. MAGARINOS TORRES.

Para esta nova especie de *Ceraleurodicus* dei o nome *Moreirai*, em homenagem ao meu presado amigo e collega CARLOS MOREIRA, Director do Instituto Biologico de Defesa Agricola, que muito tem contribuido em pról da entomologia agricola brasileira.

Pelo aspecto geral da pupa, verifica-se que o insecto tem grandes affinidades com as especies descriptas por BONDAR sob os nomes—*Radialeurodicus octifer* e *R. bakeri*.

Nas pupas ha 3 pares de póros ciriparos maiores, um na parte anterior do corpo, um no meio e outro na parte posterior. Além destes ha outros menores: 1 de cada lado da linha mediana, no meio de cada uma das grandes manchas escuras do abdomen, e um ainda menor que os precedentes, na base de cada um dos ramos da mancha arqueada posterior. Além das cerdas que ornam a margem da pupa ha 4 pares de cerdas identicas: 1 ao nivel da região cephalica e 3 nos segmentos thoraxicos.

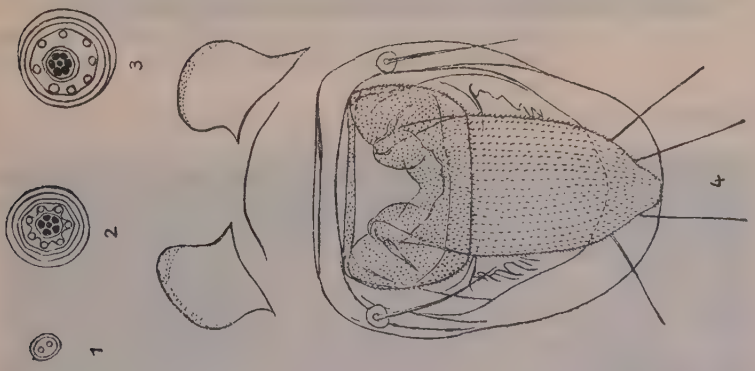


Fig. 9—*Ceraleurodicus Moreirai*.

1—Póro menor situado na mancha escura arqueada posterior.
2— « « « grande mancha escura posterior.
3—Um dos 6 grandes póros.
4—Orificio vasiforme.

Nota-se em toda a superficie do corpo grande numero de pequenos póros ciriparos apresentando um ou mais orificios.

Comprimento: 1,60 mm., largura: 0,90 mm.

O aspecto das glandulas, do orificio vasiforme da pupa, das azas anteriores nos adultos dos 2 sexos e da porção apical do abdomen do macho, pode ser apreciado nas figuras e photomicrographias.

Holotypo: a pupa perfeita montada na lamina n. 380 (Serv. Vig. Sanit. Veget.).

Paratypos: exemplares montados na lamina 381.

Ao terminar este trabalho devo consignar os meus agradecimentos aos Snrs.: CASTRO SILVA, que fez os desenhos aqui figurados, J. PINTO, que tirou a maior parte das photomicrographias, Dr. CEZAR PINTO, que mandou tirar a photographia do *Aleurodicus flumineus* pelo Snr. FEDERMANN e SANTOS LAHERA, que é o autor da photographia do *Aleurodicus magnificus*.

Manguinhos, Novembro de 1928.

BIBLIOGRAPHIA

(1) BAKER, A. C. & MOLES, M. L.—The Aleyrodidae of South America, with description of four new chilean species. Rev. Chil. de Hist. Nat., 1921, XXV, 609-656.

(2) BONDAR, G.—Aleyrodideos do Brasil. Publ. da Secretaria da Agricultura, Industria e Obras Publicas do Estado da Bahia. Secção de Pathologia Vegetal, 1923, 182 pgs., 84 figs.

(3) GOELDI, A.—Neue brasilianische Aleurodes—Arten. Mittheil. schweizent. Ges., 1886, 7, 6, 241-250.

(4) HEMPEL, A.—Descripção de uma nova especie de aleurodidae. Rev. Mus. Paul., 1918, X, 211-214, 1 fig.

(5) HEMPEL, A.—Algumas especies novas de hemipteros da familia Aleyrodidae. Notas preliminares editadas pela redação da Revista do Museu Paulista, 1922, vol. 2, fasc. 1º, 15 março, 10 pp.

(6) HEMPEL, A.—Hemipteros novos ou pouco conhecidos da familia Aleyrodidae. Rev. Mus. Paul., 1922, XIII, pp. 1121-1157.

(7) QUAINTANCE, A. L. & BAKER, A. C.—Classification of the Aleyrodidae. U. S. Dept. Agric. Tech. Ser. 27, t. 1, 1913, 93 pp., XXIV ests.

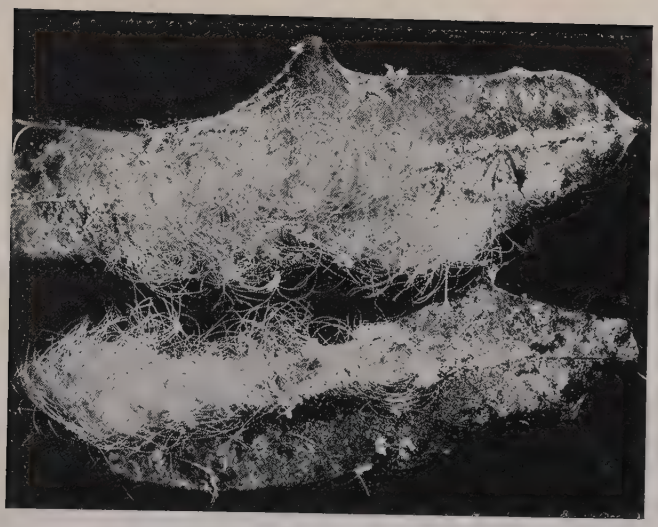


Fig. 10—*Aleurodicus flumineus* (um pouco reduzida).

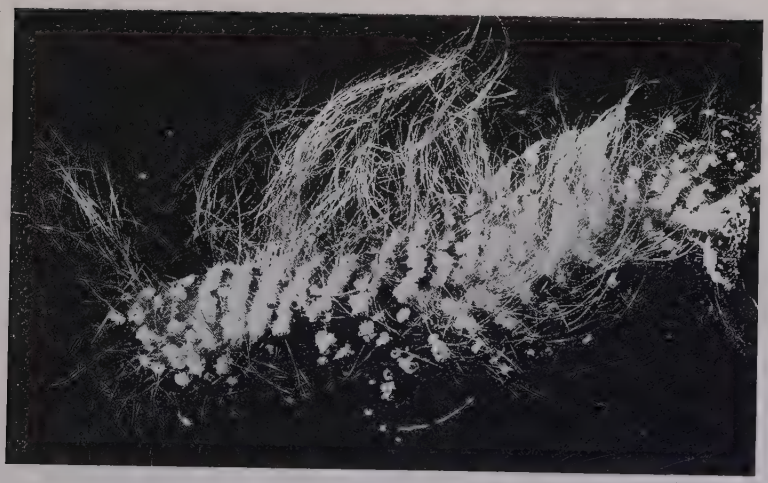


Fig. 11—*Aleurodicus magnificus* (um pouco reduzida).

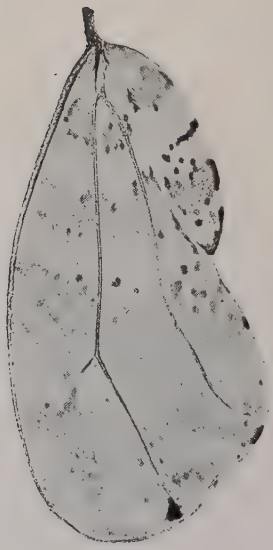
Fig. 12—*Paraleyrodes goyabae.*

Fig. 13—*Paraleyrodes pulverans.*

Fig. 14—*Ceraleurodicus Hempeli.*

Fig. 15—*Ceraleurodicus Moreirai.*

1



2

3

Fig. 16—*Ceraleurodicus Moreirai.*

1—Aza anterior do macho.
2— « « da femea.
3—Genitalia do macho.

Estudos sobre a lepra

II. TENTATIVAS DE CULTURA DO *MYCOBACTERIUM LEPRAE* (*COCCOTHRIX LEPRAE* LUTZ, 1886). ISOLAMENTO DE UM ACTINOMYCES DE UM LEPROMA. O *ACTINOMYCES LEPROMATIS*, n. sp.

(Nota prévia com 11 figuras)

Pelo Dr. H. C. de SOUZA-ARAUJO.

Depois de varias tentativas infructiferas para cultivar o bacillo da lepra, consegui isolar, de leproma, um actinomyces a que dei o nome de *Actinomyces lepromatis*.

Extirpando, por enucleação, lepromas floridos da doente H. S., que o Dr. OSWINO PENNA teve a bondade de me recommendar, utilizei-os para inoculações e semeaduras.

Os meios semeados com emulsão de bacillos permaneceram apparentemente estereis até o 15º dia, quando o caldo glycerinado começou a mostrar ligeiro grumo, no fundo do tubo, sem turvação do meio, o mesmo acontecendo, muitos dias após, com o caldo simples. Esfregaços desse material, colhido no fundo do tubo, com pipeta, e corados pelo ZIEHL-NEELSEN revelaram uma cultura mixta de bacillos acido-alcool-resistentes e filamentos, ramificados alternadamente, impregnados pelo corante de fundo. Subculturas em agar, caldo e batata, glycerinados a 5 %, revelaram, ao microscopio, menor quantidade de bacillos e maior riqueza de filamentos.

Culturas subsequentes apresentaram apenas filamentos com os caracteres typicos de um actinomyces, que estudei em collaboração com o Dr. OLYMPIO da FONSECA filho, chefe da Secção de Mycologia do Instituto Oswaldo Cruz.

No mesmo dia em que semeei emulsão, depositei, sobre agar glycerinado, fragmentos de lepromas da mesma procedencia, nos quaes o bacillo de HANSEN se multiplicou, sem, comtudo, se adaptar ao meio, resultando negativas as repicagens.

Esfregaços desse tecido leproso, depois de 60 e até 120 dias, revelaram grande abundancia de bacillos acido-resistentes, sem nenhum outro germen. Já verifiquei este facto com material de quatro doentes, e isto é uma repetição dos resultados das pesquizas de NEISSER, BE'ZANÇON, EMILE-WEIL e CHARLES NICOLLE, dentre os antigos. Modernamente HERMANN de SCHROETTER, de Vienna, semeando emulsão de leproma em meios com sôro de leproso, e SUSVIELA GUARCH, de Montevidéo, cultivando lepromas em meio de CARREL para tecidos, obtiveram a proliferação do bacillo de HANSEN, sem obter subculturas. O que vi no Japão, nos laboratorios de HARADA e de KUJO (Osaka) é mais significativo: os fragmentos de lepromas servem de alimento natural aos bacil-

los, que, se multiplicando sempre, chegam a se adaptar ao meio artificial, dando subculturas pathogenicas para os animaes de laboratorio.

O *A. lepromatis* desenvolve-se bem tanto nos meios solidos communs como nos meios liquidos. Não se multiplica, ou se multiplica mal, nos meios de SABOURAUD e não funde a gelatina. Só coagulou o leite depois do 15º dia. E' no agar simples que produz os aspectos mais typicos, porém no agar glycerinado produz colonias mais exhuberantes, de côr amarello-alaranjada. O cogumelo produz nestes dous meios colonias com sulcos radiados, e forte pigmentação. Tanto no agar como na batata glycerinados reveste-se duma camada branca, cretacea, caracteristica da esporulação dos actinomycetos. As culturas são fortemente adherentes ao substractum. No agar com manteiga e com oleo de olivas, aconselhados por LIESKE, em poucos dias forma-se uma camada lusidia que cobre todo o meio. Ahi a pigmentação é menos accentuada e a cultura menos chromogenea, produzindo, ás vezes, formas bacillares acido-alcool-resistentes. Nos meios de LOEFFLER e de PETROFF produz colonias grandes, cerebriformes, de cor amarella-viva.

Desenvolve-se bem nos caldos simples e glycerinado, na agua peptonada, formando colonias globosas, no fundo do tubo, sem turvar o meio, mas pigmentando-o fortemente.

Ao exame microscopico o cogumelo apresenta a morphologia caracteristica dum actinomyces do 1º typo: thallo rudimentar com ramificações verdadeiras, em direcções alternadas, não bacilliformes. E' GRÁM-positivo e não acido-resistente, como a maioria dos actinomyces. Esfregaços da camada cretacea de esporulação mostram esporos coccoides, ligeiramente alongados, GRAM-positivos. Esfregaços de culturas em agar-manteiga e agar-oleo de olivas, mostram mycelios degenerados, não acido-resistentes e filamentos e bastonetes acido-resistentes, propriedade esta que poderá ser mantida com maior numero de passagens em meios gordurosos. Proseguiremos nos estudos biologicos e experimentaes do cogumelo ora descripto.

CONCLUSÕES:

1. Não sei, ainda, que relação tem o *Actinomyces lepromatis* com a lepra. O seu isolamento é a repetição, em parte, dos resultados das pesquizas de DEYCKE e RESCHAD, WILLIAMS, ROST, KEDROWSKI, HERMAMN de SCHROETTER, e outros.

2. O Prof. W. J. KEDROWSKI, de Moscou, após longos annos de estudos, chegou á conclusão de que os bacillos da lepra e da tuberculose pertencem a um grupo de actinomycetos.

3. Recentemente KEDROWSKI, BRULOWA, PLATONOV, etc., conseguiram mutações de culturas velhas de bacillos da lepra e da tuberculose em actinomyces.

4. Culturas de *Actinomyces lepromatis* produziram, em meios gordurosos, formas bacillares acido-alcool-resistentes.

NOTA—Trabalho apresentado á Sociedade Brasileira de Biologia, em 31—10—928.

Fig. 1

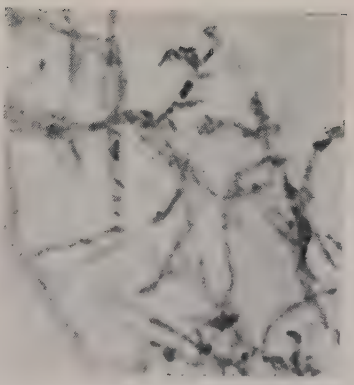


Fig. 2

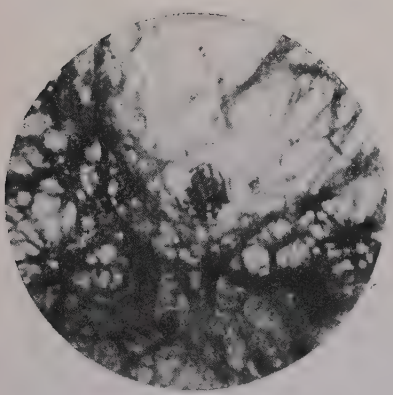


Fig. 3

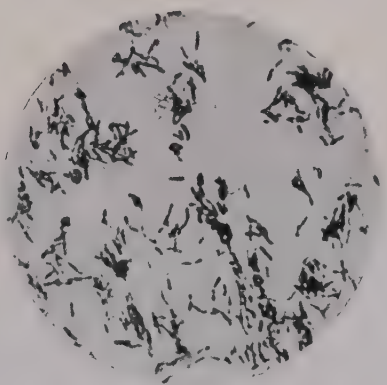


Fig. 4

Fig. 1. A doente H. S. que forneceu material para as culturas (lepromas *a* e *b*). Fig. 2. Cultura mixta: bacillos acido-resistentes e filamentos. Fig. 3. Uma globia entre os mycelios do *Actinomyces lepromatis*. Fig. 4. Esfregaço da cultura de leproma em agar glycerinado (105 dias): só bacillos acido-resistentes.

Fig. 1. The patient H. S. who provided material for the cultures (lepromata *a* & *b*). Fig. 2. Mixed culture: acid-fast bacilli and filaments. Fig. 3. A "globie" among the mycelia of the *Actinomyces lepromatis*. Fig. 4. A scraping of a leproma culture in glycerine agar (105 days): acid-fast bacilli only.

Photos J. Pinto

a b c

Fig. 5

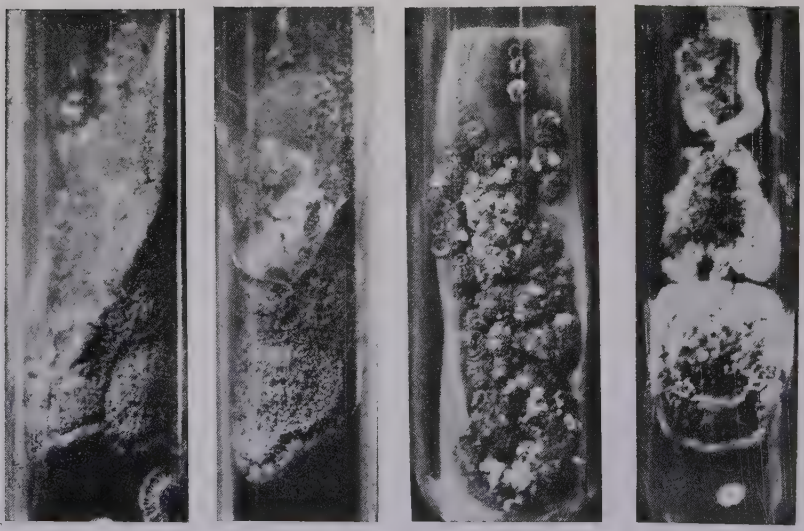


Fig. 6

a b

Fig. 7

Fig. 5. (a) Cultura do *Actinomyces lepromatis*, de 60 dias, em agar simples. Culturas em agar glycerinado, de 17 dias (b) e de 60 dias (c). Fig. 6. Culturas em agar glycerinado, de 75 dias. Fig. 7. Culturas de 10 dias em batata glycerinada (a) e de 60 dias em agar glycerinado (b), coberta duma camada branca, cretacea, de esporulação.

Fig. 5. (a) A 60 days' culture of *Actinomyces lepromatis* in plain agar, 17 (b) and 60 days' (c) cultures in glycerine agar. Fig. 6. Cultures in glycerine agar old 75 days. Fig. 7. Culture of 10 days in glycerine potato (a) and 60 days in glycerine agar (b) covered with a white cretaceous coating of sporulation.

Photos J. Pinto

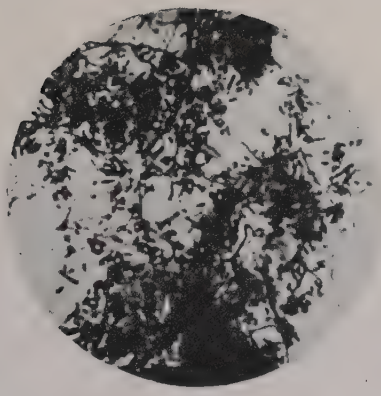


Fig. 8

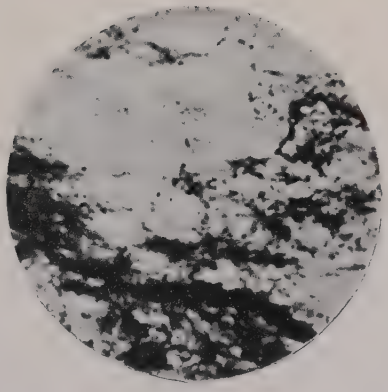


Fig. 9

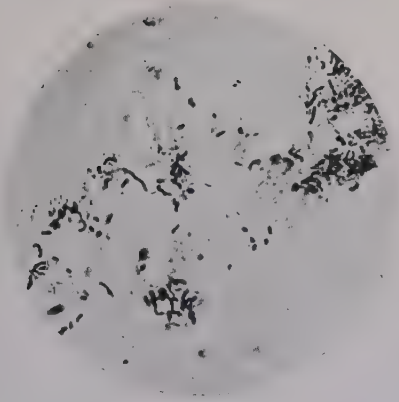


Fig. 10

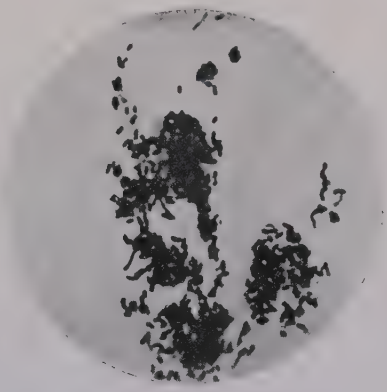


Fig. 11

Fig. 8. Esporos do *A. lepromatis* de cultura de 17 dias em agar glycerinado. Fig. 9 Cultura em agar manteiga de 22 dias (2_a geração): mycelios em degeneração. Figs. 10 e 11. Esfregaços da mesma cultura em agar manteiga mostrando filamentos e bacillos acido-alcool-resistentes.

Fig. 8. Spores of *A lepromatis* of a 17 days culture in glycerine agar. Fig. 9. Culture in agar butter with 22 days, [2nd geration]: mycelia in degeneration. Figs. 10 and 11. Scrapings of the same culture in agar butter showing filaments and acid-alcohol-fast bacilli.

Photos J Pinto

Studies upon Leprosy

II. ATTEMPTS TO CULTIVATE THE *MYCOBACTERIUM LEPRAE* (*COCCOTHRIX LEPRAE* LUTZ, 1886). ISOLATING AN ACTINOMYCES FROM A LEPROMA. THE *ACTINOMYCES LEPROMATIS*, n. sp.

(Preliminary note with 11 figures).

By H. C. de SOUZA-ARAUJO, M. D., Dr. P. H.

After several unfruitful attempts with a view to cultivate the bacillus of leprosy, I succeeded to isolate, from leproma, an actinomyces which I named as *Actinomyces lepromatis*.

After extirpating, without the skin, some flourished lepromata from the female patient H. S., whom Dr. OSWINO PENNA had the kindness to recommend to me, I used them in inoculations of animals and of culture media.

The mediums sown with emulsion of bacilli remained sterile in appearance up to the 15th day, when then the glycerine broth began to show slight clots in the bottom of the tube, the medium not showing the least cloudy. The same happened, many days afterwards, with plain broth. Smears of this material, being collected from the bottom of the tube by means of a pipet, and stained by ZIEHL-NEELSEN, revealed a mixed culture of acid-fast bacilli and filaments alternately ramified, not acid-fast. Subcultures in agar, broth and potato, glycerinated at 5 %, revealed microscopically a lesser quantity of bacilli against which a brighter riches in filaments.

Subsequent cultures gave only filaments, with typical characteristic of an actinomyces, which I studied in collaboration with Dr. OLYMPIO da FONSECA Junior, head of the section of Mycology, Oswaldo Cruz Institute.

On the same day I had inoculated the emulsion, I deposited, on glycerine-agar, fragments of lepromas of the same origin, in which the HANSEN's bacillus multiplied without however adapting to the medium, the results of whose replanting remained thus negatives.

Scrapings made from that leprotic tissue after 60, up even to 120 days, and stained by ZIEHL-NEELSEN revealed a big quantity of acid-fast bacilli without the presence of any other germ. I had already obtained the same results with material from four patients, this being a renewal of the results of researches of NEISSER, BE'ZANÇON, EMILE-WEIL and CHARLES NICOLLE, among the ancient. More recently, HERMANN de SCHROETTER, of Vienna, smearing emulsion of leproma on medium with leper's serum, and SUSVIELA GUARCH, of Montevideo, in cultivating lepromas in the CARREL's medium for tissues, obtained the proliferation of the HANSEN's bacillus without succeeding in getting subcultures. What I have seen in Japan, in the HARADA and KUJO (Osaka) laboratories is by far more notheworthy: the fragments of the lepromas are the natural

food of the bacilli, which still multiplying themselves, happen to get fit to adaptation to the artificial medium, giving subcultures, pathogenic to laboratory animals.

The *A. lepromatis* develops well, either in common solid or in fluid mediums. It doesnot or hardly grow in the SABOU RAUD's mediums and does not liquefy gelatine. Milk not clotted till the 15th day. The most typical aspects are found in plain agar; in glycerine-agar, however, it produces colonies, more luxuriant, of an orange yellow shade. The fungus produces in both media colonies with radiating furrows, darkening the media. As well in glycerinated agar as in potato, it gets covered with a white, cretaceous coating, characteristical of sporulation of actinomyces. The cultures are strongly adherent to the substratum. In agar-butter and agar-olive oil, which mediums are advised by LIESKE, after a few days a bright and plain surface is formed, which covers the whole medium. The pigmentation is there less accentuated and the culture less chromogenic. There appear sometimes bacillary forms of acid-alcool fast character. In LOEFFLER's and PETROFF's mediums, there is a formation of large, cerebriform colonies of a bright yellow color.

It develops well in plain and glycerinated broths, in peptonized water, forming globulous colonies in the bottom of the tube, without the medium getting turbid, the same however appearing strongly pigmented in brown.

On microscopical examination, this fungus shows the characteristical morphology of an actinomyces of the first type: rudimentary thallus with real alternating ramifications, not bacilliform. It is GRAM-positive, and non acid-fast like most of the actinomyces. Scrapings made from the cretaceous coating of sporulation show roundish or oval spores, slightly lengthened, GRAM-positive. Scrapings made from cultures in agar-butter and agar-olive oil show degenerated mycelia, not acid-fast, and filaments and bacilli acid-fast which property may be kept through more numerous passages in greasy mediums. We shall continue our biological and experimental studies of the fungus which we just described.

CONCLUSIONS

1. I do not know yet the relationship between the *Actinomyces lepromatis* and leprosy. Its being isolated, is the partial repetition of the results of DEYCKE and RESCHAD's, WILLIAMS', ROST's, KEDROWSKI's, HERMANN de SCHROETTER's and others' researches.

2. Prof. W. J. KEDROWSKI, of Moscow, after long years studying, arrived at the conclusions that the bacilli of leprosy and of tuberculosis belong to a group of actinomyces.

3. Recently KEDROWSKI, BRULOWA, PLATONOV, etc., succeeded in getting the mutation of old cultures of bacilli of leprosy and of tuberculosis into actinomyces.

4. Cultures of *Actinomyces lepromatis* produced, in greasy mediums, acid-alcohol-fast bacillary forms.

NOTE—Paper read before the Brazilian Society of Biology, in October 31st of 1928.

Reacção nuclear de Feulgen nos espiroche-tas e nas bacterias

Pelos Drs. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA e JULIO MUNIZ.

Em continuação ás experiencias que vinhamos effectuando a respeito da reacção de FEULGEN nos protozoarios, resolvemos verificar como ella se comportava em relação aos espirochetas.

Empregámos para esse fim os *Treponema duttoni* e *T. hispanicum* mantidos por passagem em camondongo na Secção de Protozoologia do Instituto Oswaldo Cruz. O sangue do animal altamente infectado, distendido em laminulas, era fixado, ora pelo sublimado-alcool, ora pelos vapores de acido osmico. A hydrolyse era effectuada em solução normal de acido chlorhydrico a 60º durante 4 minutos, após passagem em agua distillada pelo tempo de um minuto. Depois, as laminulas eram lavadas e conservadas durante duas horas no reactivo de FEULGEN.

Ao exame microscopico, os espirochetas não se mostravam corados, apezar da reacção ter se processado conforme era facil de verificar pela coloração dos nucleos dos leucocytos.

O modo de se comportar dos espirochetas os approxima ao das bacterias e por esse motivo fomos levados a estudar com mais detalhe a reacção em representantes desse ultimo grupo.

FEULGEN e ROSSENBECK estudando a reacção em diversos representantes das series animal e vegetal chegaram á conclusão que o nucleo dos *trypanosomas*, os *levedos* e as *bacterias* não se mostravam corados por esse methodo. Concluiram então que os sêres inferiores possuiam chromatina diversa da encontrada no nucleo de outros organismos, isto é, chromatina essa em cuja composição não entrava o acido thymo-nucleinico e sim um outro acido da mesma natureza (*Hefenucleinsäure*).

Para os trypanosomas e outros flagellados do mesmo grupo, BRESSLAU e SCREMIN demonstraram que, ao contrario do que pensavam FEULGEN e ROSSENBECK o nucleo e o blepharoplasto se coravam pela reacção nuclear. Esse resultado foi confirmado por VOIT, REICHENOW, JIROWECK e por nós mesmos. JIROWECK conseguiu tambem corar um granulo no interior dos levedos, demonstrando assim que esses sêres vivos possuem acido thymo-nucleinico na composição da sua chromatina.

Quanto ás bacterias, VOIT que estudou com detalhe a questão, diz que consideradas isoladamente ellas não se mostram coradas, mas nas partes espessas dos esfregaços, onde ha superposição de bacterias, observa-se nitida coloração violacea. Essa coloração não se apresenta com a mesma intensidade nos preparados que não soffreram hydrolyse.

VOIT interpreta esse facto considerando que as bacterias possuem como os demais seres vivos o acido thymo-nucleinico como parte constituinte da sua chromatina, a qual em pequena quantidade se encontra disseminada por todo o corpo da bacteria. Esse autor acha ser esse o motivo

pelo qual a bacteria se cora uniformemente e com uma intensidade tão pequena que não se torna apreciavel quando se considera um individuo isoladamente. Nas partes da preparação em que existe superposição dos corpos bacterianos essa coloração se mostra então evidente.

Já tinhamos observado quando estudámos o modo de se comportar do nucleo e do apparelho parabasal de alguns protozoarios para com a reacção de FEULGEN, que as bacterias existentes no material que serviu para os nossos estudos, não se corávam. Resolvemos então ensaiar a reacção em preparados feitos com cultura pura de algumas bacterias. A primeira que serviu para os nossos estudos foi o *Bacillus anthracis*. Empregámos como fixador vapores de acido osmico, fixando os preparados a humido. A coloração foi feita de accordo com a technica acima descripta. Ao contrario do que era de esperar, observámos nitidamente no interior dos bacillos granulos corados em violeta intenso. Empregámos tambem como fixador o alcool absoluto, permanecendo então os preperados 48 horas nesse fixador afim de excluir a hypothese de serem esses granulos constituidos de *plasmal* e obtivemos resultados identicos aos já assignalados. Esses resultados foram obtidos com culturas recentes de 16 a 18 horas, em agar inclinado, empregando para sementeira cultura antiga na qual só existiam formas esporuladas. De outra maneira não se obtem os mesmos resultados, observando-se então, algumas vezes, raros elementos apresentando granulações. Nestes casos verifica-se nitidamente o facto observado por VOIT, isto é, coloração violeta das partes da preparação onde ha superposição de corpos bacterianos.

As granulações acima referidas apresentam-se ás vezes isoladas na parte media do corpo do bacillo. De regra observam-se em cada bacteria duas granulações dispostas em diplococcus, cujos elementos podem se apresentar mais ou menos afastados um do outro. Um outro aspecto que tambem pode ser observado é o de bastonete. Os esporos, quando existem, apresentam-se hyalinos, refrigentes e destituidos de qualquer coloração.

As granulações que observámos e descrevemos no presente trabalho se assemelham ás que PARK, WILLIAMS e KRUMWIEDE observaram na mesma bacteria, corando-se em vermelho pelo methodo de GIEMSA e por elles consideradas como constituidas de chromatina.

Do que verificámos pode-se concluir que o *Bacillus anthracis* em certa phase de sua evolução, apresenta chromatina condensada sob a forma de granulos ou bastonetes, chromatina essa em cuja composição entra o acido thymo-nucleinico.

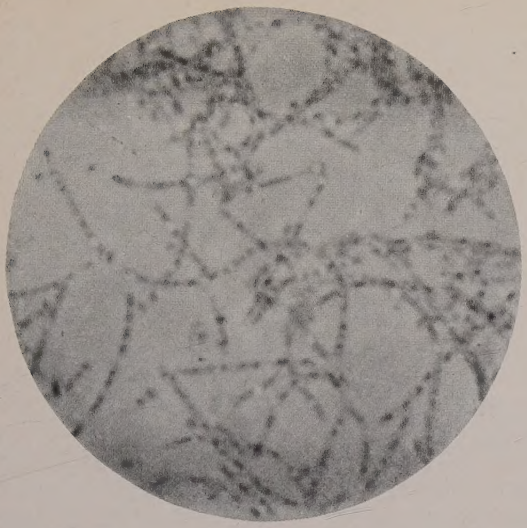


Fig. 1

Fig. 3

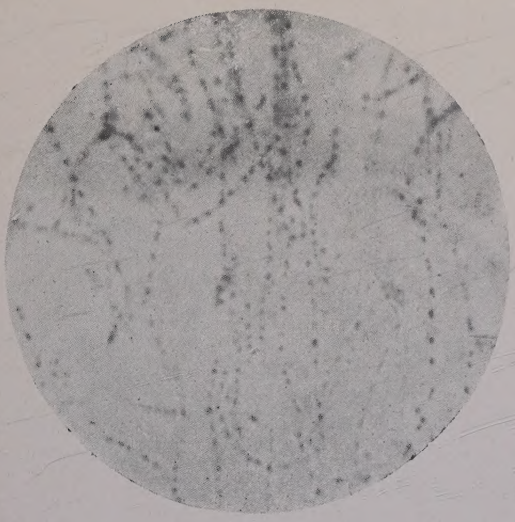


Fig. 2

Fig. 1—Microphotographia de um preparado de *Bacilus anthracis* corado pelo methodo de FEULGEN. Os granulos de chromatina apresentam-se em escuro e os esporos como espaços claros arredondados

Fig. 2—Microphotographia apresentando aspecto analogo ao da figura 1, não mostrando, porêm, os esporos.

Fig. 3—Desenho de alguns aspectos do *Bacillus anthracis* corados pelo methodo de FEULGEN, mostrando granulações no interior.

Fig. 1—Microphotographie d'une préparation de *Bacillus anthracis* colorée par la méthode de FEULGEN. Les granules de chromatine se présentent en couleur foncée, et les spores comme espaces clairs arrondis.

Fig. 2—Microphotographie présentant un aspect analogue à celui de la figure 1, moins, cependant, les spores.

Fig. 3—Croquis de quelques aspects du *Bacillus anthracis* colorés par la méthode de FEULGEN, montrant des granulations dans l'intérieur.

Réaction nucléaire de Feulgen chez les spirochètes et les Bactéries

Par les Drs. ARISTIDES MARQUES DA CUNHA et JULIO MUNIZ.

A la suite des expériences que nous avions entreprises, relatives à la réaction de FEULGEN chez les protozoaires nous avons résolu de vérifier comment celle-ci se comporte par rapport aux spirochètes.

Nous avons employé, dans ce but, le *Treponema duttoni* et le *T. hispanicum* conservés par passage sur souris, à la section de Protozoologie de l'Institut Oswaldo Cruz. Le sang de l'animal infecté à haute dose, étendu sur lamelles, était fixé, tantôt par le sublimé-alcool, tantôt par les vapeurs d'acide osmique. L'hydrolyse était effectuée dans une solution normale d'acide chlorhydrique à 60° pendant 4 minutes après passage dans l'eau distillée pendant l'espace de une minute. Ensuite, les lamelles subissaient un lavage, et étaient placées pendant deux heures dans le réactif de FEULGEN.

A l'examen microscopique, les spirochètes ne montraient aucune coloration, quoique la réaction se soit produite ainsi qu'il était facile de s'en rendre compte par la coloration des noyaux des leucocytes.

La façon dont se comportent les spirochètes les rapproche des bactéries. Cette raison nous a amenés a étudier, d'une manière plus approfondie, la réaction chez des représentants de ce dernier groupe.

FEULGEN et ROSSENBECK, en étudiant la réaction chez divers représentants de la série animale et végétale, sont arrivés à la conclusion que le noyau des *trypanosomes*, les *levures* et les *bactéries* ne se colorent pas par cette méthode. Ils en conclurent que les êtres inférieurs possédaient une chromatine différente de celle qui se rencontre dans le noyau d'autres organismes, c'est-à-dire, une chromatine dans la composition de laquelle n'entrait pas l'acide thymo-nucléinique mais un autre acide de même nature (*Hefenucleinsäure)*, ou acide levuro-nucléinique.

Pour les trypanosomes et autres flagellés du même groupe, BRESLAU et SCREMIN ont démontré que, contrairement à ce que pensaient FEULGEN et ROSSENBECK, le noyau et le blépharoplaste se colorent par la réaction nucléaire. Ce résultat reçut confirmation par VOIT, REICHENOW, JIROWECK et par nous mêmes. JIROWECK réussit également à colorer un granule à l'intérieur des levures, démontrant ainsi que ces êtres vivants possèdent de l'acide thymo-nucléinique dans la composition de leur chromatine.

Quant aux bactéries, VOIT qui a étudié la question en détail, dit que, considérées isolément, elles ne se montraient pas colorées, mais que dans les parties épaisses des frottis, où il y a superposition de bactéries, on observe une coloration violacée très nette. Cette coloration ne se présente pas avec la même intensité dans les préparations qui ne sont pas passées par l'hydrolyse.

VOIT interprète ce fait, en considérant que les bactéries possèdent, comme tous les autres êtres vivants, l'acide thymo-nucléiniqne comme partie constitutive de leur chromatine, qui, en petite quantité, se trouve disséminée par tout le corps de la bactérie. Cet auteur croit que c'est là l'explication de la coloration uniforme de la bactérie, d'une intensité tellement faible, que l'on n'arrive pas à l'apprécier quand on considère un individu isolément. Dans les parties de la préparation, où il y a superposition des corps bactériens, cette coloration, alors, se montre évidente.

Nous avons déjà observé, lorsque nous avons étudié la façon dont se comporte le noyau et l'appareil parabasal de quelques protozoaires, vis-à-vis de la réaction de FEULGEN, que les bactéries existantes dans le matériel qui a servi à nos études, ne se coloraient pas. Nous résolûmes alors d'éssayer la réaction sur des préparations faites avec une culture pure de quelques bactéries. La première qui servit à nos recherches fut celle de *Bacillus anthracis*. Comme fixateur, nous employâmes les vapeurs d'acide osmique, la fixation ayant lieu par voie humide. La coloration fut faite d'accord avec la technique décrite ci-dessus. A l'encontre de ce que l'on pouvait espérer, nous observâmes nettement dans l'intérieur des bacilles des granules colorés en violet intense. Nous employâmes également comme fixateur l'alcool absolu, les préparations séjournant alors dans ce fixateur pendant 48 heures, afin d'exclure l'hypothèse que ces granules soient constitués de *plasmal*. Nous avons obtenu des résultats identiques à ceux deja signalés. Ces résultats furent obtenus avec des cultures récentes, de 16 à 18 heures, sur agar incliné, en employant, pour ensemencer, une vieille culture dans laquelle n'existaient que des formes sporulées. En procédant différemment, on n'arrive pas aux mêmes résultats, et l'on observe alors, quelquefois, de rares éléments qui présentent des granulations. Dans ces cas, on observe nettement le fait, constaté par VOIT, c'est-à-dire, coloration violette des parties de la préparation où il y a superposition de corps bactériens.

Les granulations mentionnées ci-dessus, se présentent quelquefois isolées dans la partie mediane du corps du bacille. En règle générale, on remarque dans chaque bactérie, deux granulations disposées en diplococcus, dont les éléments peuvent se présenter plus ou moins éloignés l'un de l'autre. Un autre aspect qui peut s'observer aussi, c'est l'aspect de bâtonnet. Les spores, quand il en existe, se présentent hyalins, réfringents et dépourvus de toute coloration.

Les granulations que nous avons observées et que nous décrivons dans le présent travail ressemblent a celles que PARK, WILLIAMS et KRUMWIEDE ont constatées chez cette même bactérie. Elles se colorent en rouge par la méthode de GIEMSA, et ils les considèrent comme constituées par de la chromatine.

De ce que nous avons constaté, on peut conclure que le *Bacillus anthracis*, à une certaine phase de son évolution, présente de la chromatine condensée sous forme de granules ou bâtonnets, chromatine dans la composition de laquelle entre l'acide thymo-nucléinique.

Typ. do Instituto Oswaldo Cruz — Rio de Janeiro — Brasil.